

Université Joseph Fourier – Grenoble I



Spécialité : Sciences de la Planète

Synthèse des Travaux de Recherche
en vue de l'obtention de

l'Habilitation à Diriger des Recherches

*Microbiogéochimie, transfert réactif et impact
des micropolluants dans les sols.*

Approche couplée multi-échelles et modélisation

Jean M.F. Martins

Chargé de Recherches au CNRS



LTHE (UMR 5564), Equipe Transpore
BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9

Soutenue le 15 septembre 2008

à l'Université Joseph Fourier Grenoble I devant le jury composé de :

BALLY René
CHARLET Laurent
JOCTEUR MONROZIER Lucile
VAN CAPPELLEN Philippe
VAUCLIN Michel
VOGEL Timothy

DR CNRS
Prof. Univ. Grenoble I
CR CNRS
Prof. Univ. Utrecht, NL & GIT USA
DR CNRS
Prof. Univ. Lyon I

Président
Examineur
Examineur
Rapporteur
Rapporteur
Rapporteur

Microbiogéochimie, transfert réactif et impact des micropolluants dans les sols.

Jean M.F. Martins, LTHE (UMR 5564), CNRS, INPG, IRD, Univ. J. Fourier, Grenoble I

Résumé : L'ensemble de mes travaux est basé sur une approche pluri et interdisciplinaire développée dans le but d'améliorer nos connaissances et la compréhension du comportement biogéochimique (sorption, biotransformation et transfert) et l'impact des micropolluants dans l'environnement, afin de mieux prédire l'exposition et les impacts sur notre santé ou celle de nos écosystèmes. Au moment où des polluants émergents sont détectés dans les eaux et les sols dès qu'on se donne les moyens pour les détecter, et alors que la directive européenne REACH se met en place, les approches de recherche monodisciplinaires montrent de plus en plus clairement leurs limites et font ainsi ressortir le caractère indispensable de la pluridisciplinarité dans l'approche de la problématique de la biogéochimie des polluants. C'est dans ce contexte que j'ai essayé, à chaque fois que cela était nécessaire et possible, de développer une approche interdisciplinaire en rupture avec les approches classiques, en abordant notamment les phénomènes couplés ou cinétiques, dans le but d'évaluer simultanément et de modéliser le comportement biogéochimique (sorption, biotransformation et transferts) et l'impact des micropolluants dans les sols à plusieurs échelles et dans différents contextes biogéochimiques. Les approches ainsi développées ont permis de caractériser les mécanismes de sorption des polluants dans le sol et dans ses différents compartiments, minéral, organique et biotique et d'établir l'effet de ces processus sur le transfert réactifs de ces polluants en combinant des approches expérimentales et théoriques en conditions dynamiques et en faisant appel à des dispositifs technologiques spécifiquement développés.

La première partie de ce mémoire concerne l'étude des processus de sorption des micropolluants organiques et métalliques dans les sols, et des divers facteurs qui les contrôlent, notamment la spéciation chimique. Cette spéciation contrôle directement l'ambiance chimique dans les sols, qui correspond à un équilibre de la chimie et de la distribution des micropolluants entre les différents compartiments du sol. Ainsi les interactions des micropolluants avec les constituants abiotiques (minéraux et matière organique) et biotiques (microorganismes) des sols et leur modélisation ont été étudiées par des approches combinées de dynamique des systèmes (colonnes), chimie de solution (batch) et spectroscopiques ou microscopiques (spectroscopie EXAFS, MEB- et MET-EDX). Le premier exemple abordé a concerné la réactivité de composés organiques (dinitrophénols) en mono- et multi-contaminations. Pour cette dernière condition, il a été montré de manière originale l'existence de processus complexes et prépondérants de compétition pour les sites de sorption dans les sols et de synergie pour la toxicité, processus largement négligés dans les études classiques mono-polluants, qui ne sont que rarement représentatives de la réalité du terrain. Ainsi, ces phénomènes induisent des modifications importantes du comportement global de ces composés en termes de mobilité (cinétiques de transfert de masse), d'impact et de dégradabilité, rendant également leur prédiction très délicate car nécessitant la prise en compte des phénomènes de synergie et de compétition précités. La réactivité des micropolluants avec une des fractions les plus réactives des sols, la biomasse vivante, a également été étudiée au travers de trois modèles bactériens contrastés (*Cupriavidus metallidurans* CH34, *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*) par une approche combinée de spectroscopie X et de chimie de solution. Ainsi nous avons contribué à la validation d'un modèle universel de réactivité de surface bactérienne aux micropolluants, notamment métalliques, basé sur la prise en compte de groupements réactifs déjà connus, phosphoesters, carboxyles, ou nouvellement identifiés, sulfhydriles, par une approche d'absorption X et de modélisation thermodynamique. Ce modèle reste toutefois peu satisfaisant pour les structures biologiques complexes telles que les biofilms, qui présentent une réactivité largement sous-estimée en raison de la mise en jeu de substances polymériques extracellulaires (EPS) complexes, particulièrement abondantes dans ces structures. Ce volet constitue une de mes principales perspectives de recherche. Dans la seconde partie de ce mémoire, des approches en conditions statiques et dynamiques et mono et multi-pollutions ont permis d'évaluer la biodégradabilité et la biotransformation de contaminants traces en sols naturels. Leur impact sur le compartiment microbien a été évalué par des méthodes d'écotoxicologie classique (bio-indicateurs, marqueurs microbiologiques globaux) et par des méthodes plus innovantes (biocapteurs, biodiversité) permettant la mise en évidence du contrôle de la toxicité des contaminants par leur biodisponibilité, elle-même largement contrôlée par leur spéciation chimique, leur réactivité et leur diffusion au contact des cellules bactériennes (accessibilité). Ces études ont contribué à montrer le rôle important (prépondérant sous certaines conditions) des microorganismes dans la rétention et dans le transport des micropolluants dans les sols, phénomènes qui ont longtemps été négligés et restent encore aujourd'hui difficiles à évaluer *in situ*. Cela a constitué la dernière partie de ce travail qui présente une approche de dynamique des systèmes en colonnes de sols, permettant d'identifier et modéliser les conditions biogéochimiques impliquées dans le transfert réactif des polluants dans la zone non saturée des sols. Nous avons ainsi caractérisé les principaux facteurs biotiques et abiotiques contrôlant la mobilité des polluants et des bactéries dans les sols et développé une modélisation intégrant ces facteurs dominants. En plus d'être rapidement mobilisées dans les sols, certaines cellules bactériennes peuvent, sous certaines conditions, accélérer fortement le transport de polluants, comme nous avons pu le montrer avec le pentachlorophénol ou avec le Zn, le Cd ou le Cu et le prédire par une modélisation couplée hydrodynamique et géochimique.

L'approche pluridisciplinaire et multi-échelle (moléculaire à macroscopique) développée dans ces travaux, fournit des connaissances nouvelles (i) pour la compréhension des cycles biogéochimiques des micropolluants dans les sols, et (ii) pour l'évaluation des risques liés à ces pollutions (notamment les multi-pollutions) et le développement de techniques de bioremédiation de sols et d'eaux contaminés.

Mots clefs : Micropolluants, biotransformations, spéciation, écotoxicité, biodisponibilité, accessibilité, réactivité de surface, transfert réactif, bioremédiation, couplages, modélisation.

¹ Image de couverture adaptée de Muris M. Thèse Univ. J.F. Grenoble. 228p. 2004.

REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont d'abord à mes parents, Miquelina et Belisario, sans qui je n'aurais sans doute pas pu débiter ma carrière de chercheur. J'ai une pensée particulière pour ma mère qui est partie bien trop tôt et qui a laissé un vide inexprimable dans notre cœur. Tu me manques môme...

Je n'ai bien sûr pas suffisamment de mots dans mon vocabulaire pour dire à ma femme, Marie Claire, à quel point je la remercie pour son soutien quotidien et pour toute la force qu'elle me donne sans laquelle je ne pourrais pas développer mes travaux de recherche. Je la remercie aussi pour la patience dont elle fait preuve depuis tant d'années, et pour les nombreuses fois où je lui ai dit : j'arrive tout de suite.... Merci de ne pas trop m'en vouloir de souvent faire passer les étudiants et leurs rapports avant toi, et de me faire juste un peu la tête, et pas plus. Merci !

Un très grand merci aussi à mes enfants Estelle, Anthony et Cédric, avec qui je ne passe pas autant de temps que je voudrais. Vous avoir avec moi me soutient dans mes activités de recherche et me permet de résister à la pression que subissent les chercheurs. Je sais même que vous m'enviez puisque pour vous, je passe mes journées devant la télé (c'est un ordinateur !). Promis : demain je rentre plus tôt pour vous mettre un peu la raclée au ping-pong et au foot.

Je tiens à remercier également mes 3 mentors (directeurs de thèse et de Postdoc) qui m'ont accompagné de manière bienveillante tout au long de mes travaux de recherche et à qui je dédie affectueusement ce manuscrit : Lucile Jocteur Monrozier, Jean Paul Gaudet et André Mermoud.

Je remercie aussi vivement les membres du jury de mon HDR : Philippe Van Cappellen, Tim Vogel, Michel Vauclin, Lucile Jocteur Monrozier, René Bally (Président), et Laurent Charlet, et plus particulièrement les rapporteurs. Merci à eux pour le temps passé sur mon document et surtout pour la discussion très intéressante et enrichissante que nous avons développée lors de la soutenance.

Je n'oublie pas Raymond Portulier, René Bardin, Georges Vachaud, Michel Vauclin, André Musy, Philippe Normand, Jean Dominique Creutin et Thierry Lebel qui m'ont accueilli chaleureusement dans leur laboratoire respectif et que je remercie vivement.

Je remercie aussi en vrac et dans le désordre, en espérant ne pas en oublier trop, les personnes avec qui j'ai fait un court ou long chemin en recherche : merci à tous pour ces bons moments passés !

Alain Chalamet, Robert Lati, Jean Louis Tony, Antonio Antonino, Lorenzo Spadini, Géraldine Sarret, Véronique Guiné, Aline Navel, Jolanta Lewandowska, Jeremy Fein, Roland Hellmann, Martine et Bruno Lanson, Delphine Tisserand, Nicolas Geoffroy, Stéphanie Szenknect, Jacques Covès, Fouzia Ledgham, Roberto Geremia, Jérôme Gury, Isabelle Paintrand, Marc Audier, Cécile Delolme, Myriam Muris, Frédérique Gross, Laurent et Daniel Tessier, Olivier Frankhauser, Rafael Angulo, Nadia Van der Klink, Martin Baggenstos, Diana Rizzolio, Christophe Berney, Patrick Blanchard, Nathalie Chèvre, Christophe Unger, Sandro Peduzzi, Nicolas Roost, Philip Lopes, Michel Baudraz, Ruth Merki, Ramon Espejo, Jessica Lambert, Claire Dyon, Aurélie Brossa, Lionel Gabelli, Josina Broussillon, Justina Homa, Franck Dablé, Karima Mimouni, Franck Carbonero, Aurélie Buzet, Aurélie Gandelli, Simon Alonzo, Renaud Marcelpoix, Samer Majdalani, Christophe Barnier, Marianne Grisel, Aurélie Paillet, Julien Morel, Marion Rostaing, Christine Piot, Laure Detolsan, Nicolas Coillard, Lauric Cécillon, Danrong Zhang, Lionel Spack, Monica Miehlebradt-Levin, Béatrice Normand, Aneta Sobieralska, Monica Milfont, Christophe Morra, Tarfa Mostafa, Elsa Vitorge, Laure Metzger, Anke Schäffer, Julie Lions, Mohsen Karrabi, Philippe Séchet, Samuel Morin, Joël Savarino, Odette Nave, Sylviane Fabry, Benjamin Causse, Sérgine Mbaye, Frédéric Pignon, Christophe Mouvet, Christian Geindreau, Alain Cartelier, Patrick Füre, Irma Strassman, Nadège Etienne, Sandra Lebeau, Nicolas Renaud, Karine Vernez-Thomas, Hélène Mas, Pierre Faure, Erwann Vince, Patrick Guez, Marie-André Poirier, Dominique Bernillon, Agnès Richaume, Farnaz Moser-Boroumand, Martin Forer, Hubert van Den Bergh, Christoph Hinz, Anja Sinke, Hannes Fluehler, Christina Alvarez, Joseph Tarradellas, Alex Zehnder, René Schwarzenbach, Anaïs Durand, Marie-Jeanne Da Piedade, Bruno Vincent, David Lejon, Virginie Nowak, Noémie Pascault, Christophe Mougé, Lionel Ranjard, Isabelle Lamy, Julien Sebastia, Ester Gouveia, André Netto, Florence Baptist, Lucie Singer, Jean-Christophe Clement, Christiane Gallet, Lucile Sage, Bahar Shavanaz, Pierre Choler, Eric Paget, Jean Lévêque, Kristin Becker, David Landry, Rémy Chaussod, Anne-Catherine Favre, Nicolas Yan, Franck Poly, Nicole Lefevre, Markus Frey, Thierry Monnier, Jan Bottenheim, Slimane Bekki, Florent Dominé, Sylvie Nazaret, Markus Correa, Stefan Haderlein, Céline Lavire, Sergeï Bulat, Irina Alekhina, Daniel Prieur, Thierry Heulin, Philippe Ogier, Véronique Barthez, Dominique Marie, Céline Duwig, Georges-Marie Saulnier, Bruno Gallabertier, Hervé Denis, Jean Robert Petit, Alain Heyraud, Mara Novy-Quadri, Colette Munier-Lamy, Thérèse Choné, Francis Andreux, Marie-Jo Belgy, David Rudloff, Anthony Philippe, Cantherine André, Ignasi Florensa, Karim Mazeau, Denis Faure, Eric Claire Prigeant, Stéphane Lobreux, Aurélien Desaunay, Rémi Clément, ...

TABLE DES MATIERES

DOSSIER ADMINISTRATIF	
A Curriculum Vitae	4
1. Etat civil	5
2. Etudes et diplômes	5
3. Expérience professionnelle	5
4. Formations complémentaires	6
5. Distinctions, prix	6
6. Mobilité	6
7. Activités d'animation de la recherche	7
8. Activités d'évaluation de la recherche	8
9. Participation à des contrats de recherche	8
10. Collaborations nationales et internationales	10
B. Encadrement d'étudiants et activités d'enseignement	13
1. Encadrements de stages de master et projets d'ingénieur (PFE)	14
2. Encadrements de doctorats et post-doctorats	15
3. Participations a des comités de pilotage de doctorats	17
4. Participation a des jurys de thèse de doctorat	17
5. Autres étudiants et ITA	17
6. Activités d'enseignement et de vulgarisation	18
C. Publications	19
1. Revues Internationales à comité de lecture (PDF disponibles)	20
2. Revues nationales à comité de lecture	21
3. Ouvrages	21
4. Conférences invitées	21
5. Actes de congrès, conférences, et posters	22
DOSSIER SCIENTIFIQUE	27
D. Synthèse des travaux de recherche	29
1 Introduction	31
2. Réactivité et sorption des micropolluants dans les sols	34
2.1. Introduction	35
2.2. Modélisation de la sorption des micropolluants dans les sols	36
2.3. Facteurs contrôlant l'adsorption des micropolluants dans les sols	38
3. Aspects biologiques du devenir des micropolluants : biodisponibilité, toxicité, biotransformations.	55
3.1. Introduction	56
3.2. Modélisation de la biotransformation des micropolluants	57
3.3. Biodisponibilité des micropolluants dans les sols	59
3.4. Toxicité et impact des micropolluants	64
3.5. Biotransformation des micropolluants dans les sols	69
4. Processus de transfert réactif des micropolluants	75
4.1 Introduction	76
4.2. Modélisation des transferts de micropolluants dans les sols	77
4.2.1. Modélisation des transferts hydriques en milieux poreux	77
4.2.2. Modélisation du transport de micropolluants en milieux poreux	79
4.3. Etude du transfert réactif de micropolluants dans les sols	84
4.3.1. Caractérisation des processus hydrodynamiques	84
4.3.2. Etude du transfert réactif des micropolluants en colonnes de sols	85
5. Conclusions	97
E. Perspectives	99
1 Préambule	100
2. Cadre général	101
3. Objectifs scientifiques à court et moyen terme	101
4. Objets étudiés	102
5. Méthodologies et outils	103
6 Thématiques prioritaires	103
7 Autres thématiques de recherche	104
Références bibliographiques	106

Abréviations utilisées

ADN	Acide Désoxyribo Nucléique
ARN	Acide Ribo Nucléique
ATP	Adénosine Tri Phosphate
BM	Bilan de Masse
CCM	Constant Capacitance Model (représentation de la charge de surface des colloïdes)
CFC	Critical Flocculation Concentration
DLM	Diffuse Layer Model (modèle de représentation de la charge de surface des colloïdes)
DO ₆₀₀	Densité optique à 600nm
EPS	ExoPolySaccharides
EPS'	Extra cellular Polymeric Substances
ETM	Eléments Traces Métalliques
EXAFS	Extended X-ray Absorption Fine Structure spectroscopy
g _{MS}	g Masse Sèche
LB	Luria Bertani
LGIT	Laboratoire de Géophysique Interne et Tectonophysique
LMGP	Laboratoire des Matériaux et du Génie Physique
LPS	Lipopolysaccharides
MET	Microscopie Electronique à Transmission
MIC	Minimum Inhibition Concentration
MM	masse molaire
MO	matière organique
OC%	Pourcentage de carbone organique
PG	Peptidoglycane (constituant rigide de la paroi bactérienne)
PIE (IEP)	Point IsoElectrique
q	vitesse de Darcy (cm h ⁻¹)
TLM	Triple Layer Model (modèle de représentation de la charge de surface colloïdale)
TSM	Tris Salt Medium
UFC	Unité Formant Colonies
v	Vitesse de pore

Université Joseph Fourier – Grenoble I

Spécialité : Environnement

Synthèse des Travaux de Recherche
en vue de l'obtention de

l'Habilitation à Diriger des Recherches

A.

Curriculum Vitae

Jean M.F. Martins

Chargé de Recherches au CNRS

*LTHE (UMR 5564), Equipe Transpore
BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9*

1. ETAT CIVIL

Jean Manuel Fonseca MARTINS

Né à Pinhal do Douro, Portugal, le 28/05/1967

Marié à Marie Claire, trois enfants : Estelle, Anthony et Cédric

jean.martins@hmg.inpg.fr

2. ETUDES ET DIPLOMES

Doctorat de Mécanique. Univ. J. Fourier GRENOBLE I : « Les aspects hydrodynamiques, physico-chimiques et biologiques du devenir des pesticides dans les sols. Application au transfert du Pentachlorophénol ». 25 nov. 1993.

Dir. : J.P. Gaudet et L. Jocteur Monrozier

DEA D'Ecologie Microbienne des sols et des eaux. Univ. Claude Bernard Lyon I :

« Procédure d'obtention de bactéries du sol dégradant le pentachlorophénol : enrichissement, sélection, isolement, caractérisation et détection spécifique par immunofluorescence ». Juillet 1990.

Dir. : L. Jocteur Monrozier

MAITRISE de Génie Biologique (Biotechnologies). Univ. Claude Bernard Lyon I :

Etude de la régulation des gènes *excC* et *excD* impliqués dans l'excrétion de protéines périplasmiques chez *Escherichia coli*. juin 1989.

Licence de Biochimie. Université Claude Bernard Lyon I : juin 1988.

DEUG B. Sciences De La Vie, Université Claude Bernard Lyon I : Juin 1987

Baccalauréat D : Mathématiques et Sciences Naturelles, Lycée J. Perrin, Lyon. Juin 1985

Langues : Portugais, Français, Anglais. Allemand (scolaire), Italien, Espagnol lues.

3. EXPERIENCE PROFESSIONNELLE

- | | |
|-----------------|--|
| 10/99 à ce jour | Lab. d'Etude Transferts en Hydrologie et Environnement (LTHE).
UMR 5564 (CNRS-INPG-UJF-IRD). Chargé de Recherches au CNRS
en Microbiogéochimie des sols. Equipe TRANSPORE. |
| 05/99 –08/99 | Laboratoire de Physico-chimie de la Matière Minérale. Bureau de
Recherches Géologiques et Minières (BRGM), Orléans. Ingénieur de
recherche. Chef de projets. CDI. |
| 05/1996 - 05/99 | Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, EPFL, lab. d'Hydrologie
Aménagement. Enseignant-Chercheur. Chef de projets, Consultant en
remédiation de sites et sols pollués. |
| 11/1993 - 05/96 | Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, EPFL, lab. d'Hydrologie
Aménagement. Post-Doctorant. Co-Responsable du projet OPUS-IA
du Bureau Fédéral des Ecoles Fédérales Suisses. |
| 1990 - 1993 | Université J. Fourier Grenoble I, INPG. Groupe Hydrologie de l'Institut
de Mécanique de Grenoble (IMG), devenu en 1992, le Lab. d'Etude
Transferts en Hydrologie et Environnement (LTHE). Doctorant, |
| 1989 - 1990 | Univ. C. Bernard Lyon I, Lab. d'Ecologie Microbienne,
Assistant chercheur en Microbiologie du sol (1 an) |
| 1988 - 1989 | Univ. C. Bernard Lyon I, Lab. de Génétique Microbienne,
Assistant chercheur en Génétique Microbienne (1 an). |

4. FORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Formation par J. Wagenet à l'utilisation du modèle LEACHM. EPFL. 1994.
Formation à l'Analyse de micropolluants organiques par HPLC et CPG. Laboratoire GECOS, Prof. Tarradellas J., EPFL. 1995.
Formation par R. van Genuchten à l'utilisation du code CXTFIT 2.0. EPFL. 1995.
Formation Réseaux et Autoroutes de l'information. LCC Logistics SA et EPFL. 1995
17th International Course on Groundwater Management: Use of models in soil and groundwater remediation. (By Prof. E. Sudicky, W. Kinzelbach, R. Schulin, R. Schwarzenbach and J. Zeyer). ETHZ, Zurich, Switzerland. 4-8 March 1996.
Formation Ecobilans (Life Cycle Assessment). Module du cycle Post-Grade Ingénierie et Management de l'Environnement. Profs. LY Maistre et O. Jolliet. EPFL. 1997.
Formation à l'Ecotoxicologie Pratique. Le test Microtox. Prof. J. Tarradellas et H. Gutitnger. EPFL-EAWAG. 10-12 Novembre 1998.
Microscopie Electronique à transmission et à balayage. Initiation à l'analyse par microsonde spécifique. Centre de Microscopie électronique appliquée à la biologie de la Doua. Lyon. 2000.
Formation à l'Analyse de micropolluants métalliques par ICP-AES. LGIT. 2000.
PHREEQC-2 Course (Formation à la modélisation géochimique). Prof. L. Charlet et Tony Appelo. 13-17 Novembre 2000. Grenoble.
Formation Permanente du CNRS : Choix d'un itinéraire dans la recherche. Batz sur mer (Le Croisic). Délégation CNRS Ile de France Sud. 2-6 Octobre 2000.
Ecole thématique Adhésion-agrégation des micro-organismes, CNRS Nord-Est, UHP Nancy 1 (Responsable F. Jorand) 2001
Formation Permanente du CNRS : choix d'un itinéraire dans la recherche. Batz sur Mer. Délégation CNRS Ile de France Sud. Juin 2002.
Formation Femlab (Comsol). Application à la modélisation de la dispersion en milieu poreux. 2003. Prof. C. Geindreau et J. Lewandowska. Gdansk (PL).

5. Distinctions, Prix

Diplôme d'Honneur de l'Etudiant Etranger du Supérieur de Lyon, attribué par le CLALU (Comité Lyonnais d'Accueil et de Liaison Universitaires). Préfecture de Lyon. 1989.
Thèse de Doctorat classée 2^e du prix PhytoPharma organisé par le Groupe Français des Pesticides et Rhône-Poulenc Agrochimie. 1994.
8 Conférences invitées

6. Mobilité

1/ A la suite de ma thèse, j'ai effectué un séjour post-doctoral au laboratoire d'Hydrologie et Aménagements de l'Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL) qui s'est poursuivi par un contrat temporaire de Prof. Assistant. Durant ce séjour, j'avais en charge l'animation d'un projet sur le transport de polluants organiques dans les sols non saturés (OPUS), financé par l'Office Suisse des Ecoles Polytechniques Fédérales (EPFL, ETHZ et EAWAG) impliquant 9 laboratoires. Dans le cadre de ce projet j'ai étudié l'impact et le devenir de pesticides nitroaromatiques dans les sols alluviaux non saturés. Je me suis intéressé en particulier aux phénomènes de multipollutions, très fréquents sur sites contaminés, et à leur effet sur les processus de transport, sorption et biodégradation (Martins & Mermoud 1998; Hinz et al. 1998). J'ai également mené des études pour relier la mobilité des composés organiques à leur énergie de rétention dans les sols (Spack et al. 1998).
2/ Depuis ma nomination au LTHE (10/1999), j'ai effectué une mobilité de 6 mois (12/1999 à 06/2000) au Laboratoire d'Ecologie Microbienne (UMR 5557). Dans le cadre d'une collaboration avec Sylvie Nazaret et Lucile Jocteur-Monrozier, j'ai développé des biosensors bactériens indicateurs de la biodisponibilité du mercure dans les eaux et les sols. Ces biosensors ont ainsi été utilisés au LTHE dans le cadre du programme Mercure en Guyane.
3/ Depuis 1999, j'ai également effectué régulièrement des missions courtes (1 à 3 semaines) aux USA, au Brésil, ou en Suisse dans le cadre de collaborations de recherche (Prof. J. Fein, Université de Notre-Dame, USA ; Prof. A. Antonino, Université Fédérale de Recife, Prof. A. Mermoud, EPFL...) ou de mesures plus spécifiques (ALS Berkeley, CA).

7. Activités d'animation de la recherche

Au niveau local.

Responsable des séminaires scientifiques du LTHE de 2000 à 2005.

Responsable et animateur de l'Atelier «QUALITESS» : Qualité des sols et du sous sol, au LTHE. J'ai organisé et animé de nombreux séminaires thématiques dans ce cadre.

Responsable d'une structure de recherche : Le plateau technique « Microorganismes et Milieux Extrêmes de l'environnement » (MOME) du pôle Environnement de la région Rhône-Alpes. Co-Responsable depuis 2002 avec L. Charlet, puis avec R. Geremia (LECA) depuis 2004. Mise en place en cours sur le domaine universitaire de Grenoble des zones expérimentales 1 & 2. Responsable de la Zone 2 située au bat. CERMO, dédiée à la détection et culture de microorganismes de milieux extrêmes.

Membre de l'Institut des Métaux en Biologie de Grenoble (IMBG) du pôle Européen de Grenoble amené à devenir un réseau d'excellence européen. Correspondant pour le LTHE.

Membre de la commission chargée d'élaborer les statuts du LTHE (représentant des doctorants), 1991.

Encadrement de deux techniciens à l'Hydram (EPFL) et d'un Assistant-Ingénieur au LTHE.

Gestionnaire du laboratoire de microbiogéochimie de l'Hydram (EPFL) et du LTHE (Fonctionnement, choix des équipements et achats, maintenance, formation aux BPL...).

Au niveau national

Membre du Réseau Ecodynamique des Micropolluants (REM) coordonné par P. Hisinger et P. Benoit (INRA). Elaboration d'un document ayant servi de base scientifique pour l'Ecole chercheur « Interactions Matières organiques et Micropolluants » organisée à La Grande Motte du 1er au 4 octobre 2007.

Membre du groupe de discussion sur la phytoremédiation animé par Alain Schouff de l'ARTEB (Agence Rhône-Alpes pour le développement des technologies médicales et biotechnologies)

Membre nommé du conseil de laboratoire du LTHE depuis 2006.

Membre du groupe de travail (avec J.D. Creutin, C. Delolme, P. Joly, B. Cournoyer, O. Geffard et J. Garric) réuni les 24 et 26/10/07 et 8/02/08 et chargé de la réflexion initiale pour la mise place d'un Très Grand Equipement (TGE) dédié à l'écotoxicologie (ECOTOXICOTRON) sur le site de Rovaltain (26). Co-auteur du livre Blanc (04-2008 35p)

Auditeur du biocentre de traitement de sols pollués. Laval-Services. Groupe Séché Environnement. No 1 de la bioremédiation ex-situ en France. Juin 1996.

Correspondant du MASTER Recherche Transferts Sol et Aquifère d'Avignon pour le LTHE.

Co-Organisateur avec F. Darve (L3S) et C. Staquet (LEGI) de la Session « Mécanique et Environnement » du XXe Congrès Français de Mécanique. Grenoble. 27-31 août 2007.

Co-Organisateur avec R. Geremia (LECA) du 1^{er} colloque MOME : Microorganismes et milieux extrêmes. Le 21 novembre 2006 à Grenoble. 40 participants.

Organisateur d'ateliers de travail sur le thème « Transfert de colloïdes et de micro-organismes dans les sols non saturés » :

- Grenoble, 5/12/2001.
- Avignon, 26-28/02/2002.
- Grenoble, 27/11/2007.

Co-Organisateur avec R. Angulo du 29e colloque du GFHN. 24-25 novembre 2004 Grenoble.

Au niveau international

Co-Organisateur de l'International Congress on « Transport of organic Pollutants in Unsaturated soils (OPUS) ». 60 participants. Ascona (Switzerland), 18-22 Sept. 1995.

Membre du Comité d'évaluation de projets du Centre Franco-Indien pour la Promotion de la Recherche Avancée (CEFIPRA) : dans le domaine de la biologie et de l'environnement

Co-Rédacteur du Projet Européen PEGASE : Pesticides in European Groundwaters : detailed study of representative aquifers and simulation of possible evolution scenarios, EVK1-CT1999-00028. 9 partenaires Européens. Coordonné par C. Mouvet BRGM

Membre du programme COST 66 du 6^e PCRD : Pesticides in soil and the environment.

Guest Editor d'un numéro spécial du Journal of Contam. Hyrology, Vol. 33, N°(1-2).

Participation à des sociétés savantes

Association Romande de Protection des eaux et de l'Air (ARPEA)
American Chemical Society
International Society of Soil Science
Société Française de Mécanique.
Société Française de Microbiologie
Société Suisse de Pédologie

8. Activités d'évaluation de la recherche

Participation à des comités scientifiques

Membre du comité scientifique du Programme national - ACI Ecosphère Continentale : processus et modélisation (ECCO). Volet "Ecotoxicologie et Ecodynamique des Contaminants" (Ecodyn). 2003-2006.
Membre du Comité scientifique du Programme Bio-indicateurs des sols de l'ADEME, depuis 2005.
Membre du Comité scientifique du Programme INSU Mi-lourd, boîtes « Analyses Mesures et Expérimentation » et « Géochimie », depuis 2005.

Participation à des comités de lecture

Au titre d'éditeur associé

J. Contam. Hydrol. Vol. 33 (1-2). Septembre 1998. Numéro special intitulé: Transport of organic pollutants in unsaturated soils. Hinz C., A.J.C. Sinke, J.M. Martins and H. Flüher Eds. Elsevier Publishers. Amsterdam.

Au titre de lecteur

Chemosphere
Chemical Geology
Environmental Science and Technology
Geochemica Cosmochemica Acta
International Journal of Environmental Analytical Chemistry
Journal of Contaminant Hydrology

Participation à des Jurys

Nombreux jurys de L3 au Doctorat.
Jurys de recrutement ITA CNRS.
Jurys de recrutement de doctorants (UJF et EPFL).
Jurys de recrutement d'Ingénieurs contractuels (UJF, CNRS et EPFL).

9. Participation à des contrats de recherche

Programmes et contrats que j'ai coordonnés

1994-1996. Projet OPUS-IA. Transport of Organic Pollutants in Unsaturated Soils - an Integrated Approach. Projet National EPFL-ETHZ-EAWAG. Financé par le Board of the Swiss Federal Institutes of Technology. Co-responsable avec Prof. A. Mermoud pour la partie EPFL.
2001. Projet OSUG: Contribution des colloïdes biologiques et minéraux au transfert rapide de polluants des sols vers les nappes. Financement de 45KF Coordonnateur

- 2001-2002. Projet "Plate-forme de suivi des paramètres biologiques des sols et des eaux", BQR INPG, Financement 270KFHT 2001 pour l'acquisition d'une plate-forme de microscopie à épifluorescence et d'analyse d'images. Coordonnateur.
- 2001-2003. BIOSPEC: Rôle des bactéries dans le devenir des métaux (Hg, Cr) dans les sols. Aspects microbiologiques et spectroscopiques. Programme ATI (CNRS-INSU): Co-Responsable avec G. Sarret, LGIT, UMR 5559. Montant total : 18 k€, montant pour le LTHE: 9 k€).
- 2001-2004. Projet BIODETOX : " Biophysique et biochimie de la détoxification du mercure, du sélénium et du chrome par *Ralstonia metallidurans* CH34. Application à la bioremédiation en colonnes de sol". Financement de 400 KF TTC par l'ACI-Ecologie Quantitative/PNSE 2001. Coordonnateur.
2003. Projet "Acquisition d'un granulomètre laser et applications en physique du sol". INSU-mi-lourds, Financement de 299KFHT. Coordonnateur.
- 2003 (depuis). Plateau technique MOME (MicroOrganismes et Milieux Extrêmes), Pôle Environalp. Co-Responsable avec L. Charlet (LGIT) depuis 2002, puis avec R. Geremia (LECA) depuis 2004.
- 2007-2009. Projet MOBiPo-Cu « Rôle de la matière organique et de la biocénose dans le devenir d'une pollution chronique et diffuse au cuivre dans un sol viticole », EC2CO. 2007-2009. Co-Responsable avec L. Spadini (LGIT).
- 2007-2011. Plan Pluri Formation Microorganismes et Milieux extrêmes (MOME) Univ. Grenoble I. Co-Responsable avec Roberto Geremia (LECA).
- 2007-2008. Projet SOS-SECCU. Pôle TUNES, Univ. Grenoble I. Effet du Statut Organiques des sols de vigne sur l'Ecotoxicité du Cuivre. Financement de 7,6KE. Coordonnateur.
- 2008-2010. Projet INSU Mi-Lourds. Développement et application de fermenteurs bactériens pour la culture de microorganismes en conditions extrêmes (MOME). Financement de 44KE. Coordonnateur.

Programmes et contrats auxquels j'ai participé

- 1990-1993. Devenir des produits chimiques dans l'environnement : mise au point d'une méthodologie transposable. Cas du Pentachlorophénol. Projet de recherche n°986 avec le Ministère de la Recherche et de la Technologie, Elf Aquitaine et Rhône Poulenc. Doctorant.
- 1995-1998. Projet «Devenir des sulfonilurées dans les sols alluvionnaires». Collaboration, EPFL (CH) - CPB Nancy (F) - Dupont de Nemours (F), financé par le FNS Suisse. Coordonné par JC Védý. Partenaire.
- 1999 Projet Européen PEGASE, Pesticides in European Groundwaters: detailed study of representative aquifers and simulation of possible evolution scenarios, EVK1-CT1999-00028. 9 partenaires européens. C. Mouvet Coordin. BRGM. Corédacteur.
- 1998-2000. Programme Mercure en Guyane. Thématique No 6. Transfert du mercure dans des colonnes de sols prélevés sur les sites ateliers de Guyane. Aspects hydrodynamiques, physico-chimiques et biologiques. Coordonné par JP Gaudet.
- 2000-2003. Plan Pluri Formation CATPOL (Contrôle, Analyse et Traitement des Effluents) Partenaire. Coordonné par J.P. Magnin (LEPMI-INPG, Grenoble).

- 2002-2005. Projet CAPS COFECUB, Contra N°350-01, Transfert Préférentiel d'Eau et de Solutés dans les Sols non Saturés de la Zone Semi-Aride du Nord-Est du Brésil coordonné par R. Angulo du LTHE. Collaboration et séjours au D.E.N. de l'université Fédérale de Pernambuco, Recife, Brésil.
- 2003-2006. Projet "Géochimie et microbiologie des glaces du lac Vostok", « Programme Géomicrobiologie en milieux extrêmes » (GEOMEX). Coordonné par J.R. Petit (LGGE, Grenoble) et D. Prieur (LEMAR, Brest). Partenaire.
- 2003-2006. Projet "Biofiltration des gaz" financé par l'AC 2003 du MRT : "Non-pollution-Dépollution. Contrat de recherche LTHE-LEGI-L3S INPG). 250 KE. Partenaire.
- 2003-2006. Projet « Biopuces ». Programme thématique Région Rhône-Alpes : Sciences analytiques appliquées. Coord. Pr. T. Vogel (LEM UMR 5557). Partenaire.
- 2003-2006. Projet ECCO-ECODYN. « Relations entre la dynamique des populations microbiennes et la mobilité des métaux dans le sol : cas du cuivre ». Coordonné par L. Ranjard (CMSE, INRA, Dijon). Collaboration INRA – LTHE, 20KE. Partenaire.
- 2004-2007. Projet « Transferts réactifs en Milieux Urbains (EMMAUS). Programme national ACI ECCO. Actions Ecodyn et PNRH. Coord. C. Delolme (LSE) Partenaire.
- 2006-2009. Projet « Bioréacteur. Amélioration de la biotransformation de déchets organiques en bioréacteurs ». ANR Precodd. Coordonné par R. Moretto (INSA). Partenaire.

10. Collaborations nationales et internationales

Collaborations nationales

Laboratoire de Géotectonique Interne et Tectonophysique (LGIT UMR 5559), Grenoble. Collaboration initiée en 1999 dans le cadre du Programme Mercure en Guyane (Laurent Charlet), et qui s'est poursuivie de manière très assidue et rapprochée jusqu'à aujourd'hui à travers divers programmes comme « Biospec » de l'ATI INSU (Géraldine Sarret), Biodetox de l'ACI Ecologie Quantitative (Géraldine Sarret, Lorenzo Spadini et Roland Hellmann), Mobipo-Cu ECCO ECODYN et EC2CO – Cytrix (Lorenzo Spadini, Alain Manceau). Cette collaboration a permis la constitution d'un groupe reconnu dans le domaine de la caractérisation des interactions métaux - bactéries (3 publications internationales), reconnaissance concrétisée au niveau international par une conférence invitée au 233e ACS National Meeting, Chicago, IL, Session Mechanisms of Metal Binding onto Microbial Cell Walls. March 25-29, 2007. Divers articles communs ont été publiés (Guiné et al. 2006, 2007, Lejon et al. 2008...).

Laboratoire d'Ecologie Microbienne (LEM UMR 5557), Lyon. Collaboration initiée en 1999, dans le cadre du programme Mercure en Guyane (Sylvie Nazaret et Lucile J. Monrozier) et qui s'est poursuivie sur la thématique de l'évaluation de la biodisponibilité des métaux lourds pour les microorganismes dans les sols, via l'application de biosensors bactériens. Aujourd'hui une nouvelle collaboration se met en place qui concerne l'étude du transfert de bactéries (potentiellement pathogènes) dans les milieux naturels en relation avec le projet de création d'un Ecotoxicotron sur le site de Rovaltain à Valence.

Laboratoire d'Ecologie des Chaînes Alpines (LECA, UMR 5553), Grenoble. Collaboration initiée en 2004 après l'arrivée de Roberto Geremia, sur le thème de l'étude de stress biotiques et abiotiques sur la biodiversité microbienne des sols naturels et anthropisés, notamment dans le cadre du projet ANR Blanc Microalps. Ce travail a été valorisé par une publication dans Environ. Microbiol. (Baptist et al. 2008) et se poursuit dans le cadre de la thèse de Tarafa Mostafa (2007-2010), co-dirigée avec R. Geremia. D'autre part, Roberto Geremia a intégré le plateau technique MicroOrganismes et Milieux Extrêmes (MOME) du pôle Envirhonalp en 2004 et en est devenu co-responsable avec moi, de même que du Plan PluriFormations MOME de l'Université Grenoble I. Cette collaboration se poursuit donc aussi dans ce cadre dans la mesure où le LECA et le LTHE hébergent et sont en charge des zones expérimentales 1 et 2 de ce plateau technique.

Laboratoire des Ecoulements Géophysiques et Industriels (LEGI, UMR 5519). Collaboration initiée en 2003 (P. Séchet et A. Cartelier) dans le cadre du projet « Biofiltration des gaz » financé par l'ACI Non Pollution Dépollution (2003-2006). Les biofiltres bactériens sont très utilisés dans l'industrie pour le traitement des effluents contaminés, mais ils présentent encore des limites fortes comme le colmatage rapide par la croissance non contrôlée de biofilms dans le massif poreux. L'objectif de cette collaboration est justement d'apporter une réponse à ce problème par une approche couplée de microbiologie, hydrodynamique et modélisation inverse. Un pilote de biofiltration a été développé et optimisé au LEGI par Christophe Morra (Post-doc LTHE, sous ma responsabilité) pour la croissance contrôlée de biofilms de *P. putida* capable de dégrader le phénol, notre polluant modèle. Travail valorisé par la thèse de M. Karrabi (LEGI, 10-2008) et un article soumis à *Water Research*.

Laboratoire Sols Solides Structures et Risques, (L3SR, UMR), Grenoble. Une collaboration avec C. Geindreau (L3S) a été initiée en 2003 dans le cadre du projet Biofiltration des effluents Gazeux financé par l'ACI Non Pollution Dépollution. En particulier, nous avons développé une modélisation multi-échelles par homogénéisation du développement de biofilms en milieu poreux en collaboration également avec P. Séchet (LEGI). Ces travaux sont valorisés par la thèse de M. Karrabi (LEGI, 10-2008) et d'un article soumis à *Water Research*.

Laboratoire de Rhéologie. Collaboration initiée en 2007 avec le projet « Approche locale des mécanismes d'adhésion/détachement de micro-organismes sur substrat solide : couplage hydrodynamique-biomasse dans les procédés de dépollution » financé par le BQR INPG. Dans ce cadre, je suis membre du comité de pilotage de la thèse de Sérigne Mbaye, co-dirigée par P. Séchet (LEGI) et F. Pignon (Rhéologie). Sérigne a effectué un stage de microbiologie de 3 mois au LTHE sous ma responsabilité en 2008, pour établir les paramètres de croissance et de dégradation de la bactérie modèle *P. Putida*.

UMR Microbiologie du Sol et de l'Environnement, INRA Dijon. Une collaboration avec Lionel Ranjard et Jean Lévêque a été initiée en 2003 dans le cadre du projet « Relations entre la dynamique des populations microbiennes et la mobilité des métaux dans le sol : cas du cuivre », financé par le programme ECCO-Ecodyn. 2003-2006. L'objectif était de relier la biodisponibilité, la réactivité à la mobilité du cuivre et son impact sur les communautés microbiennes dans 3 sols limoneux amendés en diverses matières organiques (Lejon et al. 2007, 2008).

Laboratoire PESSAC, INRA Versailles. Une collaboration avec Isabelle Lamy de l'Unité PESSAC a été initiée en 2003 dans le cadre du projet « Relations entre la dynamique des populations microbiennes et la mobilité des métaux dans le sol : cas du cuivre », financé par le programme ECCO - Ecodyn. 2003-2006. L'objectif était de relier la biodisponibilité, la réactivité et la mobilité du cuivre à la matière organique de 3 sols limoneux amendés en diverses matières organiques. La distribution des fractions granulométriques de la MO (MOP, MOD, AH, AF, ...) et de leur réactivité spécifique a été caractérisée (Sébastien 2007).

Laboratoire des Sciences de l'Environnement (LSE/ENTPE). Une collaboration avec C. Delolme a été initiée en 2004 dans le cadre du projet « Transferts réactifs en Milieux Urbains (EMMAUS), Programme national / ACI Ecco Action Ecodyn. La thématique principale étant l'étude du transfert de métaux et de microorganismes dans les sols urbains (bassins d'infiltration pluviale). Valorisée par une publication (Guiné et al. Environ. Sci. Technol. 2006), cette collaboration se poursuit aujourd'hui de manière étroite avec C. Delolme sur le thème important de la préservation des sols anthropisés et notamment les aspects écotoxicologiques

Laboratoire G2R Nancy. Une collaboration a été initiée avec Pierre Faure du G2R en 2007 dans le cadre du projet « Rôle de la matière organique et de la biocénose dans le devenir d'une pollution chronique et diffuse au cuivre dans un sol viticole » (MOBiPo-Cu), financé par le programme EC2CO CYTRIX. 2007-2009. L'objectif est de caractériser la matière organique dissoute obtenue dans les effluents de colonne de sol viticole par des techniques d'analyses de traces comme par exemple la GC-MS ou LC-MS ou encore des techniques de perméation de gel, bien maîtrisées au G2R.

Laboratoire de Chimie et Biochimie des Centres Rédox Biologique (DBMS/CEA Grenoble. Collaboration avec Jacques Covès (maintenant à l'IBS) initiée dans le cadre du projet

BIODETOX financé par le programme ACI Ecologie Quantitative impliquant également G. Sarret et L. Spadini (LGIT). Ces collaborations ont donné lieu à diverses publications (e.g. Guiné et al. 2003, Guiné et al. 2006, Guiné et al. 2007, Lejon et al. 2008...).

CERMAV. Au CERMAV, je collabore avec Isabelle Paintrant, spécialiste de la préparation et de l'analyse en microscopie électronique d'échantillons biologiques. C'est ainsi que nous avons pu préparer des échantillons bactériens pour observation de l'accumulation de métaux à la surface des cellules après inclusion en résines (collaboration avec R. Hellmann (LGIT), J. Fein (Univ. Notre-Dame, USA) et M. Audier (LGPM, INPG). Je développe également une collaboration nouvelle avec Alain Heyraud et Karim Mazeau dans le cadre de l'étude et de la modélisation de la réactivité d'EPS modèles avec des métaux comme le Zn ou le Cu (Thèse de B. Causse). Un projet de recherche sur ce thème a été déposé pour financement à l' ANR Blanc en 2008 (projet Exodus coordonné par G. Sarret, LGIT).

Collaborations internationales

DEN-UFPE, Recife Brésil

Dans le cadre d'un projet international CAPES-COFECUB (Collaborations avec le Brésil) coordonné par R. Angulo-Jaramillo (CR CNRS-LTHE), J'ai entamé une collaboration avec le Prof. A. Antonino sur le devenir de phytohormones utilisées en culture fruitière et notamment de mangues en région tropicale. Cette collaboration s'est concrétisée par la co-direction de la thèse de Monica Milfont soutenue le 7 décembre 2006, thèse qui a donné lieu à plusieurs publications (Milfont et al. 2006, 2007, 2008).

Hydram, ENAC, EPFL.

Le Laboratoire d'Hydrologie et Aménagements, de l'EPFL (CH), est le laboratoire où j'ai effectué mon Post-Doctorat (séjour de 1993 à 1999). Il est aujourd'hui dirigé par le Prof. André Mermoud qui a pris la succession d'André Musy. Historiquement, j'entretiens des relations privilégiées avec André Mermoud, et des collaborations dans le domaine du transfert réactif de polluants organiques, notamment des herbicides, dans les sols alluviaux. Nous avons publié plusieurs articles dans ce domaine dont le dernier en 2008. J'espère donc poursuivre cette collaboration notamment via un projet Européen, qui pourrait être la suite du Projet PEGASE coordonné par C. Mouvet du BRGM.

Université de Notre-Dame (USA).

Une collaboration avec le Prof. J. Fein de l'Environmental Molecular Science Institute (EMSI, Univ. Notre-Dame), et avec Roland Hellmann (LGIT Grenoble) et Marc Audier (LMGP) a démarré en 2005 lors du séjour de J. Fein comme Professeur Invité au LGIT. Cette collaboration se poursuit aujourd'hui et concerne plus particulièrement la caractérisation de la distribution de métaux lourds sur les membranes bactériennes par une approche de visualisation faisant appel à des techniques de pointe telles que l'HRTEM, EELS...

Petersburg Nuclear Physics Institute (PNPI), Gatchina, St. Petersburg, Russia. J'ai entamé une collaboration avec Sergei Bulat et Irina Alekina en 2003, dans le cadre du GDRE Vostok et du projet de recherche Vostok, financé par le programme Geomex. Dans le cadre de cette collaboration Franco-russe déjà ancienne, nous étudions des échantillons de glace du lac Vostok en Antarctique, dans le but de détecter des cellules ou des traces de microorganismes, permettant d'évaluer l'évolution des microorganismes sur plusieurs centaines de milliers d'années. Cette collaboration se poursuit en relation avec l'accueil régulier de mes collègues au LGGE, via des postes de professeur invité. Ceux-ci utilisent largement les installations du plateau technique MOME dans les divers laboratoires partenaires pour mener à bien leurs campagnes de mesures microbiologiques à Grenoble.

J'ai également eu l'occasion de développer des recherches sur les sols et les eaux pollués ainsi que sur les déchets, en collaboration avec des EPIC (BRGM, CEA, EDF) et des sociétés privées, et notamment des industriels, d'abord dans le cadre de ma thèse (Rhône-Poulenc et Elf-Atochem), mais aussi après mon recrutement au CNRS (Véolia, Suez Environnement, Girus, Burgeap, ATE...)

Université Joseph Fourier – Grenoble I

Spécialité : Environnement

Synthèse des Travaux de Recherche
en vue de l'obtention de

l'Habilitation à Diriger des Recherches

B

*Encadrement d'Etudiants
Et
Activités d'Enseignement*

Jean M.F. Martins

Chargé de Recherches au CNRS

*LTHE (UMR 5564), Equipe Transpore
BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9*

1. ENCADREMENTS DE MASTER ET PROJET D'INGENIEUR (PFE)

1. Gross Frédérique. Caractérisation des transferts hydrodynamiques et des interactions du Pentachlorophénol en sols saturés. PFE, ESIGEC, Chambéry. Co-encadrement. 1992.
2. Tessier Laurent. Contribution à l'étude et à la modélisation du transfert et de la biodégradation de pesticides en colonnes de sol. DEA, INAPG. Co-encadrement. 1993.
3. Frankhauser Olivier. Etude du comportement d'herbicides en colonnes de sols non saturés. Mise au point et test d'un dispositif expérimental. PFE EPFL, 1994.
4. Baggenstos Martin. Propagation de substances solubles en milieux poreux variablement saturés : Participation à une expérimentation en cases lysimétriques. PFE EPFL, 1995.
5. Van der Klink Nadja. Impact de la mise en place d'un tracé autoroutier sur les propriétés physiques des sols agricoles utilisés temporairement lors des travaux. PFE EPFL, 1995.
6. Rizzolio Diana. Modélisation du devenir de polluants dans le sol : modèle numérique à deux fractions d'eau : le modèle LEACHM. PFE EPFL. 1995.
7. Berney Claude et Patrick Blanchard. Analyse théorique et expérimentale de la technique TDR pour la mesure de l'humidité du sol. PFE. 1996.
8. Chèvre Nathalie. Détermination des paramètres conditionnant le transport de substances polluantes dans le sol à l'aide du logiciel CXTFIT2. PFE EPFL. 1996
9. Unger Christophe. Mesure conjointe de l'humidité et de la salinité d'un sol en vue de l'étude des processus de salinisation. PFE, 1997.
10. Peduzzi Sandro. Le devenir des polluants dans les sols : participation à une expérimentation en case lysimétriques. PFE. 1997.
11. Roost Nicolas Etude du comportement d'herbicides en colonnes de sols non saturés en eau. PFE EPFL. 1997.
12. Lopes Paulo-Miguel. Paramétrisation du devenir de contaminants organiques dans les sols pour une modélisation prédictive: problèmes d'échelle, de variabilité et de représentativité. PFE EPFL 1998.
13. Baudraz Michel. Calibration d'une électrode spécifique pour la mesure d'humidité et de salinité par TDR en colonnes de sols. PFE EPFL, 1998.
14. Merki Ruth. Contribution à la modélisation du transfert réactif de dinitrophénols dans les sols. PFE EPFL. 1998.
15. Espejo Ramon. Transfert réactif d'herbicides en milieu poreux : essais sur les DNP en colonnes de sols. PFE EPFL. 1998.
16. Szenknect Stéphanie. Transfert de radioéléments en zone non saturée. Etude expérimentale et modélisation appliquées au site pilote de Tchernobyl, cas du ^{203}Hg . DEA MMGE Grenoble. Co-encadrement avec JP Gaudet. 2000.
17. Lambert Jessica. Développement d'un biocapteur bactérien *mer::lux*, indicateur de mercure biodisponible dans les sols. Stage de M1 Biologie Populations Ecosystèmes (MBPE), Univ. Grenoble I. 2001.
18. Dyon Claire. Etude de la dynamique de population d'un bio-capteur bactérien indicateur de Hg biodisponible (*E. coli* pRB 28) en sol stérile. Stage 2e année INPL. 15/6/2001.
19. Brossa Aurélie. Etude du transfert du mercure dans les sols de Guyane. Approche en colonnes et analyses de traces. PFE, ENTPE, Vaulx en Velin. 29/06/2001.
20. Gabelli Lionel. Contribution des colloïdes biotiques au transfert rapide de métaux lourds dans les sols vers les nappes. Stage de DEA Sciences de l'Environnement, Paris VI-INAPG. Septembre 2001.
21. Guiné Véronique. Etude des transferts de métaux lourds facilités par les colloïdes bactériens dans les sols. Stage de DEA MMGE. Univ. Grenoble I. 2002.
22. Broussillon Jozina. Construction et Caractérisation d'un biocapteur bactérien porteur de fusions de gènes *mer::cfp::lux* et *mer::yfp::lux*. Application à la détection de mercure biodisponible dans l'eau et le sol. Stage de 6 mois. DESS Analyses Biologiques et Chimiques, Paris V. Septembre 2003.
23. Homa Justina. Development of a degradation process in biofilter for waste air treatment: biofilm parameters characterization and application to phenol removal. TFE de 6 mois. Master of Science. Ecole Polytechnika Gdansk, Pologne. 2004.
24. Dablé Franck. Caractérisation de l'hydrophobie de surface des membranes de 3 bactéries d'intérêt environnemental et sanitaire. Stage M1 Chimie-Biologie, Univ. Grenoble I. 2004.
25. Mimouni Karima. Caractérisation du « statut » cuivre à l'aide d'un biocapteur bactérien dans les sols agricoles. Stage M1 Chimie-Biologie, Univ. Grenoble I. 2004.

26. Carbonero Franck. Etude du rôle potentiel des exopolysaccharides de *R. metallidurans* CH34 dans la fixation des métaux lourds. Stage M1 Biologie Univ. Grenoble I. Co-direction avec R. Geremia, LECA. Juin 2005.
27. Buzet Aurélie. Contribution à l'étude du transport de Cu dans un sol agricole amendé avec différents types de matières organiques. Stage M1 TUE Univ. Grenoble I. 2005.
28. Gandelli Aurélie. Application d'un biocapteur bactérien pour le suivi du cuivre biodisponible dans un sol de vigne. Master 1 TUE, Univ. Grenoble I. 2005.
29. Alonzo Simon. Relations entre la dynamique des populations microbiennes et la mobilité du cuivre dans le sol. M2R MMGE, Univ. Grenoble I. 24 juin 2005.
30. Marcelpoix Renaud. Impact de la bouillie Bordelaise sur les sols viticoles : action de la matière organiques sur le cuivre échangeable. M1 TUE. Univ. Grenoble I. Co-direction avec L. Spadini LGIT. Mai 2005.
31. Barnier Christophe. Effet d'un amendement en matière organique et du vieillissement d'une contamination cuprique sur le transfert du cuivre dans un sol de vigne. Approche expérimentale en colonnes de sol. M2R Transferts Sol et Aquifère". Université d'Avignon. 15 septembre 2006.
32. Grisel Marianne. Etude du transport de métaux lourds et de bactéries coliformes dans les sols de bassin d'assainissement pluvial urbain. Cas du bassin d'infiltration Django Reinhardt à Chassieu dans le Rhône. M2R OAH ST. Univ. Grenoble I. 23 juin 2006.
33. Paillet Aurélie. Etude du vieillissement du cuivre mobile dans les sols viticoles en présence de différents amendements organiques. Stage M1 STUE. Univ. Grenoble I. 2006.
34. Marcelpoix Renaud. Modélisation hydrogéologique tridimensionnelle d'un site pollué : le cas d'une décharge. Stage de M2P Eaux souterraines. Co-Encadrement. 2006.
35. Morel Julien. Suivi du vieillissement d'une pollution au chrome et au cuivre dans un sol urbain. Approche biogéochimique. M2R "Océan, Atmosphère et Hydrologie. Univ. Grenoble I. Co-direction avec L. Spadini, LGIT. Juin 2007.
36. Navel Aline. Etude du transfert de Cd facilité par la bactérie *C. metallidurans* CH34 en colonnes de sol d'un bassin d'infiltration urbain. Stage M1 STUE. Univ. Grenoble I. Co-direction avec V. Guiné. Mai 2007.
37. Rostaing Marion. Effet de l'état hydrique initial d'un sol de bassin d'infiltration urbain sur la mobilisation de métaux lourds et de bactéries. Stage M1 STUE. Univ. Grenoble I. 2007.
38. Piot Christine. Effet d'un amendement en matière organique et du vieillissement d'une contamination cuprique sur le transfert du cuivre dans un sol de vigne. Approche expérimentale en colonnes de sols de vigne. Stage M1 STUE. Univ. Grenoble I. 2007
39. Detolsan Laure. Spéciation et biodisponibilité du cuivre. Stage M1 STUE. Univ. Grenoble I. Co-direction avec L. Spadini (LGIT). 23 Mai 2008.
40. Coillard Nicolas. Application de la Spectroscopie en Proche InfraRouge (SPIR) à la prédiction des teneurs en cuivre et en matières organiques (cellulose et lignine) dans les sols viticoles. Stage M1 STUE Univ. Grenoble I. Co-direction avec L. Cécillon (Cemagref), 23 Mai 2008.
41. Navel Aline. Impact de la matière organique et de son évolution sur la biodisponibilité et la mobilisation du cuivre par les colloïdes. M2R OAH ST Univ. Grenoble I. 26 Juin 2008.
42. Vincent Bruno. Analyse de la spéciation et de la biodisponibilité du cuivre dans un sol viticole. Stage d'été M1STUE. Univ. Grenoble I. Co-dir. avec L. Spadini (LGIT). Septembre 2008.

2. ENCADREMENTS DE DOCTORATS ET POST-DOCTORATS

Patrick Fûri. 1994-1996. Mise au point et application d'une technique d'analyse quantitative utilisant la spectroscopie de fluorescence pour étudier le transport de composés organiques dans les sols. Thèse EPFL, no 1589 (1996). Dir. thèse : Prof. H. Van den Bergh. (Co-encadrement à 25%). Cette thèse a donné lieu à une publication dans Intern. *J. Environ. Anal. Chem.* (1997) et 2 communications dans des congrès internationaux. Patrick travaille aujourd'hui dans une banque à Genève en tant qu'informaticien.

Lionel Spack. 1994-1997. Utilisation de CO₂ supercritique pour l'extraction de résidus de pesticides nitroaromatiques dans les sols. Thèse EPFL, no 1731 (1997). Dir. J. Tarradellas. (Co-encadrement à 25%). Le travail de Lionel a donné lieu à deux publications dans *J. Contam. Hydrol.* Et *Chemosphere*, et diverses présentations orales dans des congrès Suisses et Internationaux. Lionel travaille aujourd'hui en R&D chez Nestlé, Suisse.

- Monika Miehlbradt-Levin. 1995-1998. Etude du transfert réactif du rimsulfuron dans les sols alluviaux. Inscription en thèse à l'EPFL. Co-encadrement à 50%. Bien que le travail de Monika ne se soit pas concrétisé par une soutenance de thèse (elle a abandonné son sujet en 3^e année pour des raisons de rapprochement familial), il a donné lieu à deux publications dans *Chemosphere* et diverses présentations orales dans des congrès Suisses et Internationaux. Monika travaille aujourd'hui dans l'entreprise de son mari en Suisse.
- Aneta Sobieralska. 2000-2004. Etude de la contamination du système sol-eau comme résultat de l'application des résidus des eaux usées. Thèse Polytechnika Gdansk, Pologne, soutenue le 08.07.2003 Dir. Prof. Bernard Quant. (Co-encadrement à 25%). Aneta a passé un an au LTHE sous ma direction dans le cadre du projet Biodetox (ACI Ecologie Quantitative) que j'ai coordonné, sur le thème : Etude de la réduction du Sélénite par *C. metallidurans* CH34 en colonnes de sable de Fontainebleau saturées en eau. Aneta est aujourd'hui enseignant-chercheur à l'Ecole Polytechnique de Gdansk, PL.
- Danrong Zhang. 2000-2003. Lab. d'Hydrologie et Aménagements à l'EPFL (Lausanne, Suisse), co-direction (30%). "Measurement scale effects on the determination of sorption and degradation parameters for modelling chemical transport in soil." Thèse de l'EPFL soutenue le 25 avril 2003. Le travail de Danrong Zhang a donné lieu à une publication dans *J. Environ. Qual.* et deux présentations orales dans des congrès internationaux. Danrong est aujourd'hui chercheur au Key Laboratory of Water Resources Development of MOE, Hohai University, Nanjing, China.
- Véronique Guiné. 2003-2006. Approche expérimentale et théorique de la réactivité de surface et de la mobilité des colloïdes bactériens en milieux poreux. Impact sur le transfert accéléré de métaux lourds et intérêt pour la bio-dépollution. Ecole doctorale Terre Univers et Environnement de Grenoble. Dir. 100%. Thèse ADEME soutenue le 18 juillet 2006. Son travail a donné lieu à 4 publications dans des journaux internationaux (2 autres sont soumises) et de nombreuses présentations dans des congrès nationaux et internationaux. Son travail de thèse est poursuivi par Elsa Vitorge au LTHE sous ma co-direction et celle de J.P. Gaudet. Véronique est actuellement en post-doctorat à Genève (CH) dans le laboratoire de Pascal Boivin.
- Monica Milfont. 2003-2006. Transport, adsorption et dégradation du Paclobutrazol en sol tropicaux irrigués sous culture de mangue. Université Fédérale de Pernambuco, Recife, Brésil. Thèse soutenue le 7 décembre 2006. Dir. Prof. A. Antonino. Co-encadrement à 30%. Le travail de Monica a donné lieu à trois publications dans des revues à comité de lecture. Monica est aujourd'hui Enseignant-chercheur à Brasilia, Br.
- Christophe Morra. 2005-2006. Stage Post-doctoral au LTHE du 1/04/2005 au 31/08/2006 dans le cadre du projet « Biofiltre » financé par l'ACI Pollution – Non Pollution. Dir. 100%. Sous ma responsabilité, Christophe était en charge du développement du bioréacteur pilote pour le traitement d'effluents gazeux contaminés par des composés organiques. L'objectif était d'établir une relation entre le développement bactérien dans le volume du bioréacteur (distribution spatiale, occupation de la porosité) et l'efficacité de biodégradation du phénol. Christophe Morra a mis au point également un dispositif de suivi du colmatage du biofiltre par mesure de pression macroscopique et localisée. Ses résultats font l'objet d'une publication soumise dans *Water Research J.* Christophe est actuellement en Post-doctorat sous ma direction et celle de JP Laurent
- Christophe Morra. 2007-en cours. Stage Post-doctoral au LTHE depuis le 1/12/2007 dans le cadre du projet « Bioréacteur », financé par l'ANR Precodd. Co-direction à 50% avec JP Laurent. Christophe est responsable du suivi hydrique des bioréacteurs par mesures non destructives (TDR et neutroniques) ainsi que du suivi de la qualité biologique des lixiviats provenant des divers bioréacteurs. Fin de contrat le 30 septembre 2008.
- Tarafa Mostafa. 2007-2010. Etude de la biodiversité microbienne dans des sols urbain, agricole et Alpin soumis à une pression anthropique. Ecole Doctorale Chimie et Science du Vivant. Grenoble. Co-direction à 40% avec Roberto Geremia (LECA). Soutenance prévue fin 2010.
- Elsa Vitorge. 2007-2010. Etude expérimentale et théorique du transfert de colloïdes bactériens et de nanoparticules abiotiques dans les milieux poreux : caractérisation des propriétés physico-chimiques de surface et de l'écoulement. Ecole Doctorale TUE Grenoble. Thèse en cours depuis le 1er octobre 2007. Co-direction à 30% avec J.P. Gaudet (LTHE). Soutenance prévue fin 2010.

3. PARTICIPATIONS A DES COMITES DE PILOTAGE DE DOCTORATS

- Laure Metzger. 1995-1997. Etude de la dégradation et de la sorption du rimsulfuron dans les sols. Etudes de minéralisation avec du rimsulfuron marqué au ^{14}C dans un sol alluvial et une rendzine. Thèse EPFL soutenue le 14/07/97. Dir. JC Védý EPFL.
- Anke Schäffer. 1994-1997. Etude du transport de bactéries dans les sols variablement saturés en eau. Thèse EAWAG/ETHZ soutenue le 26/09/97. Dir. A. Zehnder.
- Julie Lions. 2001-2004. Modélisation de la migration des polluants métalliques et prise en compte de la phase colloïdale: impact de la mise en dépôt de sédiments de curage contaminés. Thèse Univ. Paris 6 soutenue le 20 décembre 2004. Dir. Ian van der Lee. Ecole des Mines Paris.
- Mohsen Karrabi. 2005-2008. Etude expérimentale et modélisation des interactions hydrodynamique - biofilm dans un biofiltre de traitement d'eau et de gaz pollués. Dir. P. Séchet, LEGI.
- Samuel Morin. 2005-2008. Identification des sources de nitrates dans l'atmosphère et la neige, à l'aide d'un outil isotopique novateur basé sur la dénitrification bactérienne (Titre provisoire). Un article commun a été soumis à Science. Dir. J. Savarino, LGGE.
- Benjamin Causse. 2006-2009. Influence du vieillissement d'un biofilm monospécifique de *Pseudomonas Putida* sur la composition de la matrice extracellulaire, sa réactivité vis-à-vis du zinc et le transfert associé. Expériences statiques (batch) et dynamiques (colonnes); modélisation. Dir. C. Delolme (LSE, ENTPE) et L. Spadini (LGIT, Grenoble).
- Sérigne MBAYE. 2007-2010. Etude expérimentale et théorique à micro-échelle des mécanismes de croissance et d'adhésion/détachement de micro-organismes sur substrat solide. Dir. P. Séchet (LEGI) et F. Pignon (Lab. Rhéologie).

4. PARTICIPATION A DES JURYS DE THESE DE DOCTORAT

Participation en tant que rapporteur

- Spack Lionel. 1997. Lab Ecotoxicologie, IATE, EPFL. (Lausanne, Suisse, Resp. Prof. J. Tarradellas). Thèse EPFL.
- Zhang Danrong, 2003. Lab. d'Hydrologie et Aménagements, IATE, EPFL (Lausanne, Suisse), Resp. Prof. A. Mermoud. Thèse EPFL.

Participation en tant qu'examinateur

- Guiné Véronique. 2006. (LTHE UMR 5564, Dir. J. Martins). INP Grenoble.
- Jacobs Albert. 2007. (INRA Avignon. Dir. F. Lafolie). Université d'Avignon.

5. AUTRES ETUDIANTS ET ITA

Etudiants 1^{er} cycle :

- Strassman Irma: Caractérisation des propriétés hydriques d'un sol alluvial. Stage 2^e année (EPFL).
- Etienne Nadège : (IUT Biologie Appliquée, Lyon) : Dynamique de population de *Rhodococcus chlorophenolicus* en sol stérile et non stérile. Stage de DUT de biologie appliquée. 1991.
- Lebeau Sandra (BTS Biochimie) : Etude de la biodégradation de quatre herbicides de la famille des dinitrophenols dans un sol agricole. Stage de BTS. 1996.
- Lambert Jessica. Comportement physico-chimique de l'isoproturon dans le sol lessive dégradé des carrés. DUT Biologie Appliquée Tours. 1999.
- Renaud Nicolas (IUT Génie Biologique Caen) : Etude d'échantillons de glace du lac Vostok en microscopie à épifluorescence. Stage de DUT de Génie biologie. 2003.

Personnel technique (ITA) :

- Karine Vernez-Thomas. Laborantine en biogéochimie des sols. Hydrum EPFL.
- Hélène Mas. Ingénieur d'étude en analyses de micropolluants par CPG. CDD 4 mois. LTHE. 2006.
- Erwann Vince. AI CNRS. Depuis le 1^{er} janvier 2008. LTHE.

6. Activités d'Enseignement et de Vulgarisation

Enseignement

Intervention dans le Cours de Physique du sol de 2^e Année de Génie Rural. Resp. Prof. A. Mermoud. EPFL. 6h/An. 1995-1998.

Participation aux stages de terrain en hydrologie et physique du sol. Génie Rural, EPFL. 1995-1998.

Cours Biogéochimie des micropolluants. 3^e Cycle en Environnement. Resp. Prof. J. Tarradellas. EPFL. 6h/an. 1996-1998.

Cours « Bio-physico-chimie des milieux poreux complexes » à l'Université Claude Bernard Lyon I, dans le cadre de la MST de Chimie de l'Environnement. Resp. Prof. R. Rohr. 2^e cycle. CM/TD, 20h/an. De 2000 à 2004 (réforme LMD).

Cours « Transferts réactifs dans les sols » à l'Université Joseph Fourier Grenoble I, M1 Sciences de la Terre et de l'Univers. (2^e cycle). CM/TD, 24h/an, depuis 2001.

Cours "Fonctionnement des milieux naturels eau/sol/atmosphère, impacts et risques sanitaires", 3^e année commune de l'INPG. Filière PIME. CM/TD/TP. 20h/an.

Travaux Pratiques de dynamique des systèmes : Mesure de la dispersivité des sols en colonnes par traçages chimiques et fluorescents. 3^e année. Filière PIME de l'INPG.

Cours de "Biogéochimie des sols. Caractérisation du compartiment microbien et de son fonctionnement dans les sols". 3^e année de l'ENSTA, Paris. CM, 7h/an.

Cours "Microbiogéochimie des sols pollués". Module du cours Physico-chimie, microbiologie et modélisation des processus de transfert dans les milieux poreux complexes. Ecole doctorale "Terre, Univers, Environnement" de Grenoble. CM, 6h tous les 2 ans depuis 2004.

International course "Microbiology and biochemistry of (polluted) soils" 3^e cycle (cours doctoral). Ecole Polytechnique de Gdansk (Pologne). 4h. en Anglais. Tous les deux ans depuis 2003.

Cours "Aspects microbiologiques du traitement de déchets ménagers". Ecole doctorale "Terre, Univers, Environnement" de Grenoble. CM, 6h. Depuis Mai 2008.

Formation continue

Formation de doctorants à l'analyse quantitative d'Atrazine et de Dinitrophénols par HPLC (HP 1100). Hydram, EPFL, Suisse.

Formation de doctorants et permanents à l'analyse granulométrique de milieux poreux par granulométrie laser (Mastersizer 2000, Malvern). Formation interne au LTHE, Grenoble.

Vulgarisation :

Martins J.M.F. Vie microbienne dans les sols et impact sur notre vie quotidienne. Poster et animation d'un stand avec utilisation par le public d'un microscope à épifluorescence pour la visualisation de microorganismes du sol. Fête de la Science 2002 à Grenoble.

Martins J.M.F., Pollution des sols par les métaux lourds et bio-dépollution. Conférence et débat public. II^e Biennale de l'Environnement. 3-6 Octobre 2002. Bobigny (F).

Rencontre avec des classe de lycée et conférences sur le fonctionnement des sols pollués.

Université Joseph Fourier – Grenoble I

Spécialité : Environnement

Synthèse des Travaux de Recherche
en vue de l'obtention de

l'Habilitation à Diriger des Recherches

C

Publications

Jean M.F. Martins

Chargé de Recherches au CNRS

*LTHE (UMR 5564), Equipe Transpore
BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9*

PUBLICATIONS

REVUES INTERNATIONALES A COMITE DE LECTURE :

Liste exhaustive disponible sur : <http://www.researcherid.com/rid/B-2715-2008>

1. Monrozier L.J., P. Guez, A. Chalamet, R. Bardin, J. Martins and J.P. Gaudet. Distribution of micro-organisms and fate of xenobiotic molecules in unsaturated soil environments. *Sci. Total Environ.* 136, p121-133. 1993.
2. Martins J.M., L.J. Monrozier, A. Chalamet, and R. Bardin. Microbial response to repeated applications of low concentrations of pentachlorophenol in an Alfisol under pasture. *Chemosphere*, 35: 1637-1650, 1997.
3. Moser-Boroumand F., J.M. Martins, M. Forer, A. Mermoud and H. van Den Bergh. Development of an optical fiber fluorescence set-up for in situ pah detection in porous media. Application to pyranine transport in sand columns. *Intern. J Environ. Anal. Chem.* 68: 239-256. 1997.
4. Hinz C., Sinke A.J.C., Martins J.M. and H. Fluehler. Transport of organic pollutants in unsaturated soils. *J. Contam. Hydrol.* 33, 1-3, 1998.
5. Martins J.M. and A. Mermoud. Sorption and biodegradation of four nitroaromatic herbicides in mono and multi-solute saturated/unsaturated soil batch systems. *J. Contam. Hydrology.* 33: 187-210. 1998.
6. Spack L., C. Alvarez, J.M. Martins and J. Tarradellas. Comparison of Supercritical Fluid Extraction (SFE), Soxhlet and shaking methods for pendimethalin extraction from soils: effect of soil properties and water content. *J. Contam. Hydrology.* 33: 171-185. 1998.
7. Martins J.M.F. and A. Mermoud. Transport of rimsulfuron and its metabolites in alluvial soil columns. *Chemosphere.* 38: 601-616. 1999.
8. Martins J.M.F., N. Chèvre, Spack L., A. Mermoud and J. Tarradellas. Degradation in soil and water and ecotoxicity of rimsulfuron and its metabolites. 45: 515-522. *Chemosphere.* 2001.
9. Guiné V., Martins J.M.F. and J.P. Gaudet. Facilitated transport of heavy metals by bacterial colloids in sand columns. *J. Phys. IV.* 107-593-596. 2003.
10. Guiné V., Spadini L., Muris M., Sarret G., Delolme C., Gaudet J.P. and J.M.F. Martins. Zinc sorption to cell wall components of three gram-negative bacteria: a combined titration, modelling and EXAFS study. *Environ. Sci. Technol.* 40:1806-1813. 2006. <http://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00191148/fr/>
11. Milfont M.L., Antonino A.C.D., Martins J.M.F., Netto A.M., Correa M.M. Hydrodispersive characterization of two soils of the São Francisco River Valley. *Rev. Braz. Cien. Agr.* 1: 81-87. 2006.
12. Guiné V., J.M.F. Martins, B. Causse, Durand A., J.P. Gaudet and L. Spadini. Effect of cultivation and experimental conditions on the surface reactivity of the metal-resistant bacteria *Cupriavidus metallidurans* CH34 to protons, Cadmium and Zinc. *Chem. Geol.* 236:266-280. 2007.
13. Lejon D.P.H., V. Nowak, S. Bouko, N. Pascault, C. Mougél, J.M.F. Martins and L. Ranjard. Genetic structure and diversity of Cu- resistant bacterial communities according to soil types, organic status and Cu contamination. *FEMS Microbiol. Ecol.* 61: 424-437. 2007.
14. Milfont M.L., A.C.D. Antonino, J.M.F. Martins, A.M. Netto, E. Gouveia, M.B. Freire. Sorption of Paclobutrazol in two soils of mango culture. *Rev. Braz. Cien. Agr.* 2: 285-291. 2007
15. Baptist F., Singer L., J.C. Clement, C. Gallet, Guillemain R., J.M.F. Martins, L. Sage, B. Shavanaz, P. Choller, and R. Geremia. Tannin impacts on microbial diversity and the functioning of Alpine soils. A multidisciplinary approach. *Environ. Microbiol.* 10: 799-809. 2008.
16. Milfont M. L., J.M.F. Martins, A.C.D. Antonino, E. Gouveia, V. Guiné, H. Mas, A.M. Netto, M.B. S. Freire. Reactivity of the plant growth regulator Paclobutrazol (Cultar®) with two tropical soils of the northeast semi-arid region of Brazil. *J. Environ. Qual.* 37:90-97. 2008.
17. Lejon D.P.H., J.M.F. Martins, J. Lévêque, L. Spadini, N. Pascault, D. Landry, R. Chaussod, and L. Ranjard. Copper dynamics and impact on microbial communities in vineyard soils of variable organic status. *Environ. Sci. Technol.* 42: 2819-2825. 2008.
18. Mermoud A., J.M.F. Martins, D. Zhang, A.C. Favre. Small scale spatial variability of atrazine and dinoseb adsorption parameters as determined from batch experiments. *J. Environ. Qual.* 37: 1929-1936. 2008.

19. Milfont M.L., A.C.D. Antonino, J.M.F. Martins, A.M. Netto, E. Gouveia, and M. M. Correa. Transport of Paclobutrazol in soil columns. *R. Bras. Ci. Solo*, 32: 2165-2175. 2008.
20. Morin S., J. Savarino, M.M. Frey, N. Yan, S. Bekki, J.W. Bottenheim and J.M.F. Martins. Tracing the origin and fate of NO_x in the Arctic atmosphere using stable isotopes. *Science*. 322:730-732. 2008.
21. Morin S., J. Savarino, M. M. Frey, F. Domine, H.-W. Jacobi, L. Kaleschke and J.M.F. Martins. Comprehensive isotopic composition of atmospheric nitrate in the Atlantic Ocean boundary layer from 65°S to 80°N. *J. Geophys. Res. Atmos.* 114: -. 2009.

2. REVUES NATIONALES À COMITÉ DE LECTURE :

22. Miehlebradt M., J.M.F. Martins and A. Mermoud. Transfert et comportement du rimsulfuron en milieux poreux saturés. *Bull. GFHN*. 35-36: 46-50, 1996.
23. Martins J.M.F. and A. Mermoud. Use of Time Domain Reflectometry (TDR) for water and solute transport study in variably saturated soil columns. *Bull. GFHN*. 39:59-65, 1997.
24. Martins J.M.F. et S. Nazaret. Construction et caractérisation d'un bio-capteur bactérien indicateur de la bio-disponibilité du mercure dans les sols. *Bull. GFHN*, 47: 100-107. 2001.
25. Martins J.M.F. and Guiné V. Evidence for heavy metals accelerated transport by bacteria in soils. *Déchets Sci. & Tech.* 32: 26-30. 2003.
26. Guiné V., J.M.F. Martins, J.P. Gaudet. Transfert de colloïdes bactériens en milieux poreux. Implication pour le transport accéléré de polluants. *Bull. GFHN*. 53:117-123. 2007.

3. OUVRAGES :

27. Guiné V. and J.M.F. Martins. Contribution de deux colloïdes bactériens au transport rapide de mercure, zinc et cadmium dans les sols. Dans "Contaminants métalliques des agrosystèmes et écosystèmes péri-industriels". Chap. 3. p67-82. P. Cambier, C. Schwartz and F. van Oort Eds. Editions Quae, Versailles. 2009.

4. CONFÉRENCES INVITÉES :

28. Martins J.M.F., L.J. Monrozier, J.P. Gaudet, P. Normand. Biological aspects of chlorinated pesticides degradation in soil. Colloquium N°17: Remediation of contaminated soils. 5th Meeting of the J. Cartier Centre, Montreal CA, 6-10 October. 1992
29. Martins J.M.F., A. Mermoud. Behaviour of dinitrophenol herbicides in soil at different scales: batch, column and lysimeter experiments. 6th COST 66 Int. Workshop: "Pesticides in soil and the environment", p 19-20. Stratford, UK, 13-15 May, 1996
30. Martins J.M.F. Sorption and degradation of nitroaromatic herbicides: batch, column and lysimeter studies. Workshop "The transport and fate of organic pollutants in unsaturated soils". Zurich, Switzerland, 29 January 1997
31. Martins J.M.F. Mesure de l'humidité et de la salinité des sols par TDR. Workshop "La mesure en hydrologie et Hydrogéologie", Lausanne (CH), 26-28 Mai, 1997.
32. Martins J.M.F. Pollution des sols par les métaux lourds et bio-dépollution. Conférence et débat public. II^e Biennale de l'Environnement. 3-6 Octobre 2002. Bobigny (F).
33. Martins J.M.F., S. Bulat, I. Alekhina, D. Prieur, T. Heulin, P. Ogier, D. Marie, J.R. Petit. Combined microscopy and flow cytometry approaches failed to detect and enumerate microbes in 2054 and 3561 ice cores of lake Vostok (Antarctica). SALE Congress: Subglacial Antarctic Lake Environments: Advanced Science and Technology Planning Workshop. Session 4: SALE Biology and Genomics. Grenoble, France. 24-28 April 2006.
34. Guiné V., L. Spadini, B. Causse, J. Gury, G. Sarret, C. Delolme, A. Heyraud, R. Geremia, J. M. F. Martins. A combined titration, structure and metal reactivity study to evaluate Cd and Zn location in bacterial cells and model biopolymers. Session Mechanisms of Metal binding onto microbial cell walls. 233rd ACS Nation. Meeting, Chicago. March 25-29 2007
35. Guiné V., J.M.F. Martins, L. Spadini, J.-P Gaudet. Cd and Zn binding onto bacterial cell walls and its implication for accelerated transport in porous media. Session Mechanisms of Metal Binding onto Microbial Cell Walls. 233rd ACS National Meeting, Chicago, IL, March 25-29, 2007

5. ACTES DE CONGRÈS, CONFÉRENCES, ET POSTERS :

36. Monrozier L. J., J.M.F. Martins, P. Guez and A. Chalamet. Soils and biodegradation of xenobiotic molecules. 4th Intern. Workshop: Chemical, biological and Ecotoxicological behaviour of pesticides in the soil environment. Rome (Italy). May 29-31 1991.
37. Martins J.M.F., M. Novy-Quadri, L. J. Monrozier and J.P. Gaudet. Méthodologie d'Étude du transfert d'un pesticide, le Pentachlorophénol, dans des colonnes de sols partiellement saturés en eau : écoulement, biodégradation. Actes 22e congrès du Groupe Français des Pesticides, p44-50. Dijon. 19-20 Mai 1992.
38. Martins J.M.F., L.J. Monrozier, J.P. Gaudet, P. Normand. Biological aspects of chlorinated pesticides degradation in soil. Proceedings of the Colloquium: Remediation of polluted soils." 5th meeting of the J. Cartier Centre ". 6pp. 6-10 October. Montreal (Canada) 1992.
39. Martins J.M.F., M. Novy-Quadri, L.J. Monrozier and J. P. Gaudet. Transfer of a pesticide (Pentachlorophenol) in columns of soil with interactions and biodegradation: Experience and modelling. Proc. of the IXth Symposium on "Pesticide Chemistry: degradation and mobility of xenobiotics". p537-542. Piacenza (Italy) 12-13 October 1993.
40. Martins J.M.F. Fate of PCP in soil: Transport, biodegradation and interactions. Workshop: "Transport of Organic Pollutants in Unsaturated Soils". Kastanienbaum, Switzerland, 20-22 March, 1994.
41. Martins J.M.F., M. Novy-Quadri, L. J. Montrosier and J.P. Gaudet. Solute transfer in soil: flow, physical-chemical interactions and colloidal transport. Proc. XIXth General Assembly of the European Geophysical Society. Session HS10, Grenoble. (France). 25-29 Avril 1994.
42. Martins J.M.F., M. Novy-Quadri, L. J. Monrozier and J.P. Gaudet. Effect of micro-organisms on the fate of Pentachlorophenol (PCP) in soil. Proc. XIXth General Assembly of the European Geophysical Society. Session HS10, Grenoble (France), 25-29 Avril, 1994.
43. Miehlbradt M., L. Metzger, J.M.F. Martins and A. Mermoud. Etude expérimentale et modélisation du comportement d'une sulfonilurée dans un sol alluvial. 3e congrès du Groupe Rhône-Alpin Pollution et Ecosystèmes. p102-103. Turin (Italy), 23 Sept. 1994.
44. Miehlbradt M., J.M.F. Martins and A. Mermoud. Transfert et comportement du rimsulfuron en milieu alluvionnaire saturé. XXes Journées du Groupe Francophone d'Humidimétrie et traNsferTs en Milieux poreux (GFHN). 1995. p65-68. Montpellier (F), 17-18 Mai. 1995.
45. Martins J.M.F., A. Mermoud. Fate of NitroAromatic Compounds (NACs) in an alluvial soil: batch, column and lysimeter experiments. Proc. Intern. Workshop on "Organic pollutants in unsaturated soils". Ascona (CH), 18-22 Sept. 1995.
46. Martins J.M.F., M. Novy-Quadri, L.J. Monrosier and J.P. Gaudet. Fate of penta-chlorophenol in soil columns: experiments and modelling. Proc. Intern. Workshop on "Organic pollutants in unsaturated soils". Ascona (Switzerland), 18-22 Sept, 1995.
47. Moser-Boroumand F., J.M.F. Martins, P. Furi, M. Forer and H. van den Bergh. Investigation of the transport of Pyranine in a water saturated sand column using in situ fluorescence spectroscopy. Proc. Intern. Workshop on "Organic pollutants in unsaturated soils". Ascona (Switzerland), 18-22 Sept, 1995.
48. Martins J.M.F. and A. Mermoud. Use of Time Domain Reflectometry (TDR) for water and solute transport study in variably saturated soil columns. XXI^e Journées du Groupe Francophone d'Humidimétrie et traNsferTs en Milieux poreux. Avignon Nov 1996
49. Moser-Boroumand F., J.M.F. Martins, P. Furi, A. Mermoud and H. van Den Bergh, Development of an optical fibre fluorescence set-up for in situ PAH detection in porous media. Proc. 4th workshop on: Soil and sediment contaminant analysis, Lausanne, Switzerland. 22-25 Sept. 1996.
50. Miehlbradt M., J.M.F. Martins and A. Mermoud. pH effects on rimsulfuron behaviour in saturated sand columns. Proceedings of the 6th COST 66 international workshop: "Pesticides in soil and the environment", p71-72. Stratford/Avon, UK. 13-15 May 1996.
51. Martins J.M.F., A. Mermoud. Behaviour of dinitrophenol herbicides in alluvial soil batches, columns and lysimeter: a coupled approach. Proc. XXIIIrd General Assembly of the European Geophysical Society. Session HSA1-03, Nice. (France). 20-24 Avril 1998.
52. Metzger L. O. Y., Munier-Lamy C., Choné T., Andreux F., Belgly M. J., Martins J.M.F. and Mermoud A. Fate of the sulfonilurea herbicide rimsulfuron in soil: mobility and

- interactions with soil constituents. Proc. of the 16th World Congress of Soil Science. 6p. Montpellier (F). 20-26 August 1998.
53. Martins J.M.F. and A. Mermoud. Transport of rimsulfuron and its metabolites in alluvial soil columns. Workshop of the Swiss Society of Pedology. Zurich, (CH), 12-13 March 1998.
 54. Martins J.M.F., A. Mermoud. Fate of Rimsulfuron and its metabolites in an alluvial soil. Proc. XXIVth General Assembly of the European Geophysical Society. HSA6-02, La Haie, Pays Bas, 19-23 Avril 1999.
 55. Mouvet, C., J. Lambert, J.M.F. Martins, A. Cailleau, A. Saada, B. Normand and N. Baran. Transfert préférentiel d'un phytosanitaire dans des lysimètres de luvisol dégradé. Actes du Colloque PNRH. Toulouse. 16-17 mai 2000.
 56. Martins J.M.F. et S. Nazaret. Construction et caractérisation d'un bio-capteur bactérien indicateur de la bio-disponibilité du mercure dans les sols. Actes des XXVes Journées du Groupe Francophone d'Humidité et de transferts en Milieux poreux (GFHN). "Milieux poreux - milieux vivants". Lyon (F), 27-28 Nov. 2001.
 57. Martins J.M.F., L. Gabelli et J-P. Gaudet. Contribution des colloïdes biotiques au transfert rapide de métaux lourds dans les sols. Actes du 1er Coll. Institut des Métaux en Biologie de Grenoble. Autrans, 22-23 Oct. 2001.
 58. Szenknect S., D. Rudloff, J.M. F. Martins, C. André, and J-P. Gaudet. Transport and sorption of ²⁰³Hg in columns of a surface soil from the French Guyana. HSA8.01 session "Hydrology and chemical processes: Contaminated land: natural attenuation, reactive barriers and in-situ remediation methods". EGS XXVIth General Assembly, Nice, France, 25-30 March. 2001.
 59. Martins J.M. F., and S. Nazaret. Ability of a bacterial luminescent reporter to colonise and to survive in soil with and without a mercury stress. HSA8.02. Hydrology and chemical processes: Microbial processes in subsurface chemistry. Proc. EGS XXVIth General Assembly, Nice, France, 25-30 March. 2001.
 60. Martins J.M.F., V. Guiné, L. Gabelli et J-P. Gaudet. Transport de polluants métalliques et organiques par les colloïdes biotiques et abiotiques dans les sols. 1er Rencontres nationales de la recherche sur les sites et sols pollués : bilan et perspectives. 6p. Paris. 12-13 Décembre 2002.
 61. Martins J.M.F., L Gabelli et JP Gaudet. Transport de polluants facilité par des colloïdes bactériens. Approche expérimentale. Workshop "Transferts réactifs dans les milieux poreux complexes" du Programme National de Recherche en Hydrologie du CNRS. Avignon, 27-28 Février 2002.
 62. Guiné V., Martins J.M.F. and J-P. Gaudet. Transport de polluants métalliques facilité par des colloïdes biotiques dans les sols. 2e colloque de l'Institut des Métaux en Biologie de Grenoble. Autrans (F) 16-17 décembre 2002.
 63. Guiné V., Martins J.M. F. Contribution de deux colloïdes bactériens au transport rapide de mercure, zinc et cadmium dans les sols. Colloque "Devenir et effets des contaminants métalliques dans les agrosystèmes et écosystèmes terrestres". Lille, 20-21 mars 2003
 64. Guiné V., Martins J.M. F. and J.P. Gaudet. Facilitated transport of mercury, zinc and cadmium by bacterial colloids in sand columns. XIIth Intern. Conf. Heavy Metals in the Environment (ICHMET). 26-29 May 2003. Grenoble.
 65. Guiné V., Martins J.M.F. Mobilité bactérienne et transport accéléré de métaux lourds dans les sols : Effet des propriétés de surface et de la physico-chimie. Poster. 3e colloque de l'Institut des Métaux en Biologie de Grenoble. Autrans (F) 8-9 décembre 2003.
 66. Guiné V., Martins J.M.F. Transport accéléré de métaux lourds dans les sols par des colloïdes bactériens : intérêt pour la bio-remédiation? VIe congrès de la Société Française de Microbiologie. Bordeaux. 10-12 mai 2004.
 67. Martins J.M.F. and S. Nazaret. Caractérisation quantitative du mercure bio-disponible dans les sols à l'aide de biocapteurs bactériens porteurs de fusions de gènes mer-gfp. VIe congrès de la Société Française de Microbiologie. Bordeaux. 10-12 mai 2004.
 68. Guiné V., Martins J.M. and J.P. Gaudet. Bacterial Detoxification of a heavy metal contaminated soil. Proc. 1st Intern. Workshop IMBG. 6-8 sept. 2004. Villard de Lans (F).
 69. Martins J.M.F. and K. Mimouni. Use of a whole-cell biosensor to monitor bioavailable copper in a contaminated soil with different organic matter amendments. Oral presentation "Homeostasis of metals", First International meeting of the Institute of Metals in Biology of Grenoble (IMBG). Villard de Lans, France. 6-8 September 2004.
 70. Guiné V., Martins J.M.F. and J.P. Gaudet. Bacterial cell movement and its implications in heavy metals transport acceleration in saturated soil columns. "Soil biology", Eurosoil Congress. p365. Freiburg, Germany. 4-12 sept. 2004.

71. Ranjard L., J. Levêque, R. Chaussod, D. Lejon, D. Landry, I. Lamy, J. Sebastia, J.M.F. Martins. Ecotoxicité et Ecodynamique du cuivre en fonction du statut organique du sol. Colloque INRA, CT3 du département EA. Dourdan, 2 et 3 février 2005.
72. Delolme C., Guiné V., Muris M., Martins J.M.F., Sarret G., Gaudet J.P., Spadini L. Experimental study and modelling of zinc sorption on three gram-negative bacteria. Poster. "Synchrotron applications in trace element analysis". 8th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements. p132-133. Adelaïde, Australia. 3-7 April 2005
73. Martins J.M.F. Application of a whole-cell biosensor to monitor bioavailable copper in a contaminated soil amended with different types of organic matter. "Quantifying reduction in bioavailability and human and ecological risk in treated heavy metal-contaminated soils using in vitro methods and bioassays". Poster. 8th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements. p178-179. Adelaïde. Australia. 3-7 April 2005.
74. Guiné V. and J.M.F. Martins. Bio-sorption and bio-leaching of zinc and cadmium in a contaminated sandy soil. conference. "Trace element interactions with microorganisms". 8th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements. p562-563. Adelaïde, Australia. 3-7 April 2005.
75. Guiné V., Spadini L., Causse B., Durand A., Gaudet J-P., and J.M.F. Martins. Effect of growth conditions and cell physiological state on acid-base and Zn titration properties of *Ralstonia metallidurans* CH34. Poster. "Trace element interactions with microorganisms". 8th International Conference on the Biogeo-chemistry of Trace Elements. p 576-577. Adelaïde, Australia. 3-7 April 2005.
76. Philippe A., C. Geindreau, P. Séchet, and J.M.F. Martins. Biofilm development in porous media: Application of homogenization to derive a macroscopic model from the physics at the pore scale. Congress on biotechniques for air pollution control. La Coruña, Spain. 5 – 7 October 2005.
77. Lejon D.P.H., J. Sebastia, I. Lamy, J.M.F. Martins, L. Spadini, J. Leveque, R. Chaussod, and L. Ranjard. Relations entre la dynamique des populations microbiennes et la mobilité des métaux dans les sols: cas du cuivre. Colloque de restitution ECosphere COntinentale. Toulouse, France, 5-7 Décembre 2005.
78. Martins J.M.F., S. Bulat, I. Alekhina, D. Prieur, T. Heulin, P. Ogier, D. Marie, J.R. Petit. Combined microscopy and flow cytometry approaches to detect and enumerate microbes in 2054 and 3561 ice cores of Lake Vostok (Antarctica). SALE Congress: Subglacial Antarctic Lake Environments: Advanced Science and Technology Planning Workshop. Session 4: SALE Biology and Genomics. Grenoble (F). 24-28 April 2006.
79. Guiné V., L. Spadini, G. Sarret, M. Muris, C. Delolme, J-P. Gaudet and J.M.F. Martins. Zinc sorption on gram-Negative bacteria: A combined titration and EXAFS study. 6th Intern. Congress on Speciation of elements in biological, environmental and toxicological sciences. ISSEBETS. Białowieża, Poland 21-25 June 2006.
80. Sebastia J., D. Lejon, J.M.F. Martins, I. Lamy, L. Spadini, J. Leveque and L. Ranjard. Soil Copper Impact as Affected by Organic Inputs: A Biological and Chemical Approach. Session 2.5A Soil Physicochemical-Biological Interfacial Interactions: Impacts on Transformations and Bioavailability of Metals and Metalloids – Poster. 18th World Congress of Soil Science (WCSS), Philadelphia, Usa. July 9-15, 2006.
81. Martins J.M.F. and V. Guiné. Application of *Cupriavidus Metallidurans* CH34 and *Escherichia coli* to Bio-Remediate Zinc, Cadmium and Copper Contaminated Soils. Session 3.5C. Combating Global Soil & Land Degradation III. Agro- and Forest Ecosystems: Physical, Chemical and Biological Processes – Poster. 18th World Congress of Soil Science (WCSS), Philadelphia, USA. July 9-15, 2006.
82. Martins J.M.F., M. Griesel, C. Barnier and L. Spadini. Effect of organic matter inputs on copper speciation, bio-availability and leaching in two vineyard soils. Session 2.5A Soil Physicochemical-Biological Interfacial Interactions: Impacts on Transformations and Bioavailability of Metals and Metalloids – Poster 1162b. 18th World Congress of Soil Science (WCSS), Philadelphia, USA. July 9-15, 2006.
83. Gallet C., Baptist F., Buffet M., Choler P., Clément J.C. , Geremia R. , Guillemain R., Martins J.M.F., Sage L., Shahnava B., Zinger L. Alpine soil properties are influenced by *Dryas octopetala* tannins. XXIIIrd Intern. Conf. on Polyphenols. Winnipeg, Manitoba, Canada, August 22-25, 2006.
84. Séchet P., Geindreau C., Martins J.M.F., Morra C., Karrabi M. Biofilm growth and hydrodynamic/biomass interaction in a granular bioreactor: modelling and experimental

- validation. 17th Intern. Congress of Chemical and Process Engineering. Prague, Czech Republic. 27-31 August 2006.
85. Martins J.M.F., Morra C., M. Karrabi, I. Florensa-Ferrando, P. Séchet, C. Geindreau, A. Cartelier. Influence des interactions biomasse/hydrodynamique sur la croissance d'un biofilm bactérien dans un biofiltre granulaire pour le traitement d'effluents industriels: Modélisation et validation expérimentale. Colloque Bio-dépollution et Environnement: Savoir et Savoir-faire. Paris 12-13 septembre 2006.
 86. Ogier P., Martins J.M.F., D. Prieur, T. Heulin, D. Marie, S. Bulat, I. Alekhina, J.R. Petit. Inter-Laboratory Microscopy Approach Failed to Detect and Enumerate Microbes in Vostok Ice Core: The Lessons for SALE Biology. Extremophiles 2006 Congress. Brest, France. 17-21 sept. 2006.
 87. Causse B., Spadini L., Delolme C., Gury J., Martins J., Heyraud A. Curtet Y and Geremia R., (2006) Etude de la réactivité comparée entre un exopolysaccharide (EPS) modèle, le xanthane, et les bactéries planctoniques, 1^{er} colloque du plateau MOME (Micro-organismes et Milieux Extrêmes de l'environnement), 21 Nov. 2006, Grenoble (F).
 88. Sarret G., M.-P. Isaure, A. Manceau, N. Geoffroy, L. Spadini, J.M.F. Martins, V. Guiné, B. Gouget, L. Avoscan, J. Covès, P. Saumitou-Laprade, N. Verbruggen, Y.-E. Choi, E. Harada and M.A. Marcus. Mechanisms of metal(loïd)s accumulation and detoxification in bacteria and plants using synchrotron techniques. Workshop des Sciences de la Terre, Dijon, 4 - 8 decembre 2006
 89. Milfont, M.L.; Antonino, A.C.D; Netto, A.M.; Martins, J.M.F.; Gouveia, E.R. (2006) Parâmetros hidrodispersivos de dois solos do perímetro irrigado do Vale do São Francisco. VIII Simpósio de Recursos Hídricos do Nordeste, Gravatá – PE, 17-20 outubro 2006.
 90. Milfont, M.L.; Netto, A.M.;Antonino, A.C.D; Martins, JM.F.; Gouveia, E.R. (2006) Transporte do paclobutrazol em solo do perímetro irrigado no vale do são Francisco. VIII Simpósio de Recursos Hídricos do Nordeste, Gravatá – PE, 17-20 outubro 2006.
 91. Guiné V., L. Spadini, B. Causse, J. Gury, G. Sarret, C. Delolme, A. Heyraud, R. Geremia, J. M. F. Martins A combined titration, structure and metal reactivity study to evaluate Cd and Zn location in bacterial cells and model biopolymers. Session Mechanisms of Metal Binding onto Microbial Cell Walls. 233rd ACS National Meeting, Chicago, IL, March 25-29, 2007.
 92. Guiné V., J.M.F. Martins, L. Spadini, J.-P Gaudet. Cd and Zn binding onto bacterial cell walls and its implication for accelerated transport in porous media. Session Mechanisms of Metal Binding onto Microbial Cell Walls. 233rd ACS National Meeting, Chicago, IL, March 25-29, 2007.
 93. Frey M.M., S. Morin, J. Savarino, and J.M.F. Martins. Nitrogen and triple oxygen isotopic composition of surface snow in Antarctica. Proc. European Geosciences Union General Assembly. BG5.09/CL49 Climate variability and the carbon cycle (past, present and future): The EuroCLIMATE Programme on multi-proxy reconstructions and coupled climate models at European and regional scales. Geophysical Research Abstracts, VolBG5. Vienna, Austria, 15-20 April 2007.
 94. Causse B., L. Spadini, C. Delolme, V. Guiné, M. Muris, Y. Curtet, A. Heyraud, J. Gury, and J.M.F. Martins. Chemical reactivity, transfer properties and modelling of Zn^{2+} , H^+ sorption onto *Pseudomonas putida* biofilms in batch and column systems. Proc. European Geosci. Union General Assembly. HS15. Vienna (A), 15-20 april 2007.
 95. Martins J.M.F., Morra C., M. Karrabi, I. Florensa-Ferrando, P. Séchet, C. Geindreau, A. Cartelier. Développement d'un biofilm bactérien dans un biofiltre granulaire de traitement d'effluents industriels: influence des interactions biomasse/hydrodynamique. Actes VII^e Congrès Société Française de Microbiologie (SFM). Nantes, 30 mai-1 juin 2007.
 96. Martins J.M.F., D. Prieur, T. Heulin, D. Vaultot, P. Oger, S. Bulat, I. Alekhina and J.R. Petit. Inter-laboratory microscopy approach failed to detect and enumerate microbes in vostok ice core: the lessons for sale biology. Actes VIIe CONGRES Société Française de Microbiologie (SFM). Nantes, 30 mai-1er juin 2007.
 97. Martins J.M.F., C. Barnier, A. Paillet and L. Spadini. Effet du statut organique des sols sur la spéciation, la bio-disponibilité et la mobilité du cuivre dans les sols de vigne. Approche couplée en microcosmes et en colonnes. Actes VIIe CONGRES Société Française de Microbiologie. Nantes, 30 mai-1er juin 2007.
 98. Causse B., Gury J., Guiné V., Delolme C., Heyraud A., Geremia R., Martins J.M.F. and Spadini L. Proton and Zn^{2+} reactivity of Xanthan, a model exo polysaccharide to assess metal sorption on bacterial biomass. Proc. of the 9th International Conference on the

- Biogeochemistry of Trace Elements in the Environment (ICOBTE). Technical Session: Trace elements interactions with microbes. Beijing, China. 15-20 July, 2007.
99. Guiné V., Martins J.M.F., Spadini, L. and J-P. Gaudet. Zn and Cd biosorption onto bacteria cells and its implications for accelerated metal transport and soil bio-remediation. 4th Symposium on Biosorption and Bioremediation. Prague, Czech Rep. 26-30 august 2007.
 100. Karrabi M., C. Morra, P. Séchet, C. Geindreau, J.M.F. Martins and A. Cartelier. Influence des interactions biomasse/hydrodynamique sur la croissance d'un biofilm. Session Mécanique et Environnement. 18e congrès Français de Mécanique (CFM). Grenoble. 27-31 Août 2007.
 101. Guiné V., J.M.F. Martins et J.P. Gaudet. Intérêt du transfert facilité des métaux lourds par les colloïdes bactériens pour la bio-dépollution des sols. Session Mécanique et Environnement. 18^e congrès Français de Mécanique. Grenoble. 27-31 Août 2007.
 102. Guiné V., J.M.F. Martins and J.P. Gaudet. Etude expérimentale du transfert de colloïdes bactériens en milieu poreux. Session transferts convectifs de chaleur et de masse. 18e congrès Français de Mécanique (CFM). Grenoble. 27-31 Août 2007.
 103. Karrabi M, P Séchet, C Morra, C Geindreau, J.M.F. Martins, A. Cartelier. Effect of biofilm growth on hydrodynamic properties of bioreactors. 6th European Congress of Chemical Engineering. Session T2-P7: Transport Phenomena in Porous/Granular Media. Poster. Copenhagen, 16-20 Sept. 2007
 104. Zinger L., B. Shahvanaz, L. Sage, J. Gury, A. Monier, J.C. Clement, C. Gallet, F. Baptiste, J.M.F. Martins, P. Choler and R. Geremia. Spatio- temporal dynamics of fungal communities in alpine ecosystems. 3e colloque « d'Ecologie microbienne ». La Grande Motte (F), 15 - 18 octobre 2007.
 105. Guiné V., J.M.F. Martins, J.-P. Gaudet. Transfert de colloïdes bactériens en milieux poreux. Implication dans le transport accéléré de polluants métalliques. 32^{èmes} Journées Scientifiques du GFHN: De la particule au milieu poreux: formation, évolution et transferts. Nantes, 21-22 Novembre 2007.
 106. Morin S., M.M. Frey, A. Grudzieu, J.M.F. Martins, J. Savarino. Latitudinal variations of nitrogen and triple oxygen isotopic composition of nitrate in the marine boundary layer over the Atlantic Ocean. AGU Fall Meet. San Francisco, USA. 10-14 December. 2007.
 107. Guiné V., G. Sarret, L. Spadini, M. Muris, C. Delolme, B. Causse, J.M.F. Martins. Combined Titration, Modelling, and EXAFS Study for the Complexation of Zinc and Cadmium by three Gram negative bacteria. EGU General Assembly. BG 6.5, "Geomicrobiology: geochemical and molecular interactions between microbes, minerals and metals". Geophys. Res. Abstracts. Vol. 10, EGU2008-A-10924. Vienna 14-18 april 2008
 108. Morin S., J. Savarino, M.M. Frey, F. Domine, J.M.F. Martins, S. Bekki and J.W. Bottenheim. Isotopic constraints on the budget of atmospheric nitrate in the Arctic. EGU General Assembly. Session "Isotopes in Geosciences: Instrumentation and Applications". Geophys. Res. Abstracts, Vol. 10, EGU2008-A-06058, Vienna, 14-18 April 2008.
 109. Guiné V., E. Vitorge, J-P. Gaudet, L. Spadini, and J.M.F. Martins. Role of bacteria in the accelerated transfer of heavy metals in soils. Advantages for polluted soil bio-remediation. EGU General Assembly. Session BG 6.5, Geomicrobiology: geochemical and molecular interactions between microbes, minerals and metals Geophys. Res. Abstracts. Vol. 10, EGU2008-A-07874. Vienna, 14-18 April 2008.
 110. Causse B., Spadini L., Delolme C., Sarret G., Martins J.M.F., Heyraud A. and K. Mazeau. Proton and Cu²⁺ reactivity of Xanthan, a model bacterial exopolysaccharides. Goldschmidt Intern. Conference. "Metal ions and bacteria. A tribute to Terry Beveridge". Vancouver, CA, 14-19 July 2008.
 111. Morin S., N. Yan, M.M. Frey, S. Bekki, J.M.F. Martins, J.W. Bottenheim and J. Savarino. Tracing sources and Sinks of NO_x in the Arctic Atmosphere Using Stable Isotopes in Nitrate. IGAC Intern. Conference: "Bridging the scales in Atmospheric Chemistry: Local to Global". Annecy, (F), 7-12 September 2008.
 112. Martins, J.M.F., Lejon, D.P.H., Lévêque, J., Navel, A., Spadini, L., Pascault, N., Landry, D., Milloux, M.J., Nowak, V., Chaussod, R. and Ranjard, L. Influence of soil organic status on the Dynamics and Impact of Copper on Microbial Communities in a vineyard soil. ISMOM Intern. Conference, Session 3. Soil-Root-Microbe Interaction & Their Effects on Biophysical Transformation, Fate, and Toxicity of Metal and Metalloids. Pucon, Chile, 24-28 November 2008.

Université Joseph Fourier – Grenoble I

Spécialité : Environnement

Synthèse des Travaux de Recherche
en vue de l'obtention de

l'Habilitation à Diriger des Recherches

D

Travaux de recherche
1990 – 2008

Jean M.F. Martins

Chargé de Recherches au CNRS

*LTHE (UMR 5564), Equipe Transpore
BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9*

Milieux poreux hétérogènes et systèmes multi-échelles

Jean Baptiste Perrin, n'était pas biologiste, mais bien physicien, connu entre autres pour ses démonstrations expérimentales de l'existence des atomes constitutifs de la matière. Il a ainsi développé au début du 19^e siècle, une vision très novatrice de la structure multi-échelle des systèmes, y compris biologiques, bien avant que cela constitue un pan de recherche à part entière. Un exemple remarquable de ce côté visionnaire est donné dans l'introduction de son livre 'Les atomes' (Perrin 1913) dans laquelle ce précurseur décrit la structure hiérarchique d'un milieu poreux :

« Mes yeux cherchaient en vain une région homogène... dans le sol que je voyais par la fenêtre. J'ai sélectionné une zone à peu près homogène... J'avais juste à me rapprocher pour distinguer des détails... ce qui m'amenait à suspecter l'existence d'autres détails. De nouveaux détails étaient observés à chaque étape, rendant mon impression générale bien différente de mon impression initiale. En fait, comme cela est bien connu, une cellule vivante est loin d'être homogène, et à l'intérieur, on peut reconnaître l'existence d'une organisation complexe, avec des filaments et des granules immergés dans un plasma irrégulier, où l'on ne peut que deviner les choses. Ainsi, la portion de matière initiale que l'on croyait homogène, apparaît indéfiniment diverse et on ne peut supposer, qu'en poursuivant l'exploration, on puisse atteindre l'homogénéité, ou même une structure ayant des propriétés variant régulièrement de point en point. »

Il est remarquable que Perrin ait identifié l'importance des systèmes multi-échelles, en invoquant la structure de composants biologiques présentant ce type d'organisation, bien avant que ne soit communément reconnue l'existence de connections entre la structure d'un milieu poreux et la manifestation de processus physiques, chimiques et biologiques, qui s'y déroulent. Une bonne représentation de la vision de Perrin est présentée dans la figure 1 ci-dessous, décrivant une séquence d'échelles dimensionnelles associées à un bioréacteur. On peut ainsi résumer le postulat de Perrin : (1) le milieu physique présente une structure complexe, hétérogène, et hiérarchisée, et (2) la manifestation de phénomènes à n'importe quelle échelle de ce type de milieu, dépend en principe de la structure de chacune des échelles dimensionnelles inférieures (ou au moins un continuum d'échelles).

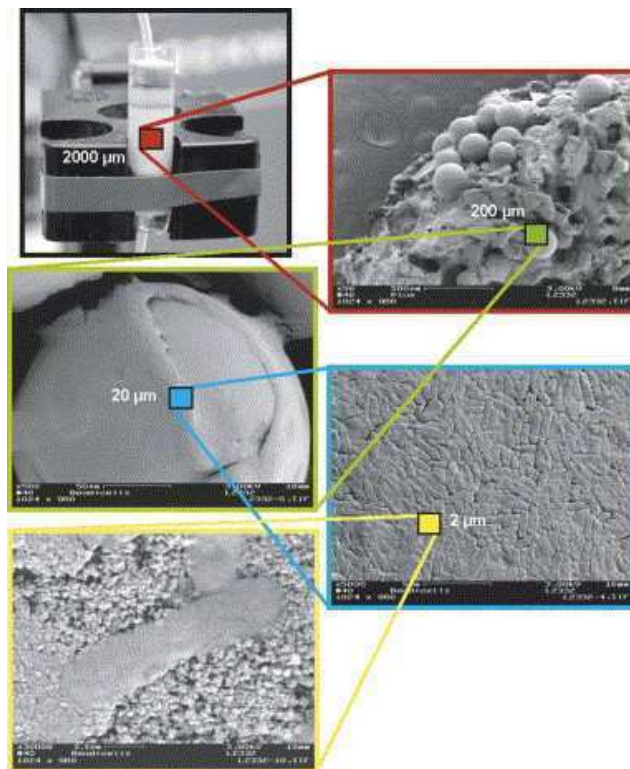


Figure 1 : La vision des milieux poreux par J.B. Perrin (1913). Echelles dimensionnelles dans un bioréacteur. Les processus observés à la plus grande dimension caractéristique (le réacteur) sont profondément influencés par ceux se déroulant aux longueurs caractéristiques inférieures (cellules individuelles). Exemple de la bactérie *Shewanella putrefaciens* cultivée sur un milieu poreux constitué de billes de polystyrène de 250 μm de diamètre (adapté de Wood and Ford, 2007)

SYNTHESE DES TRAVAUX DE RECHERCHE

Ce mémoire est organisé en trois parties correspondant aux travaux de recherche que j'ai menés en synergie avec des biologistes, géochimistes pédologues et physiciens du sol, sur les aspects biologiques, chimiques et physiques du devenir des micropolluants organiques et métalliques dans les sols, travaux conçus en accord avec les concepts présentés dans l'encadré et la figure 1 et dont la démarche générale est synthétisée dans la figure 2, ci-après. La première partie synthétise les résultats obtenus sur la réactivité des polluants organiques et métalliques avec les constituants minéraux, organiques et biologiques des sols, avec une approche couplée expérimentale et théorique. La seconde partie concerne les aspects biologiques de la biotransformation et de l'impact des micropolluants dans les sols en relation avec leur biodisponibilité. La dernière partie regroupe mes travaux sur le transfert réactif de micropolluants et microorganismes appliqués seuls ou en mélange, dans les sols naturels et anthropisés non saturés. J'ai synthétisé dans ces trois parties des travaux fondamentaux orientés vers la compréhension des mécanismes et leur modélisation, mais aussi des aspects plus appliqués, au cœur de nos préoccupations environnementales, en relation avec les potentialités de bioremédiation des milieux contaminés.

Etant bien entendu, compte tenu de la complexité du problème (Figure 2), qu'il est complètement irréaliste de vouloir identifier et comprendre, à l'échelle du bassin versant, les mécanismes impliqués dans le devenir des micropolluants dans les sols, seule une approche multi-échelles, faisant intervenir des réductions d'échelles successives, en accord avec la conservation de structure fonctionnelle du milieu vue dans la figure 1, peut permettre d'aboutir à une représentation acceptable, et surtout transposable, de ces mécanismes.

Ainsi, par ces réductions d'échelles successives, et en privilégiant les études sur milieux contrôlés au laboratoire, j'essaye de répondre aux objectifs suivants :

- identifier les mécanismes microbio-physico-chimiques en mono- et multipollutions,
- intégrer les informations obtenues à différentes échelles d'espace et de temps,
- hiérarchiser les mécanismes et les décrire avec un minimum d'équations et paramètres.

Les approches expérimentales que j'ai développées pour suivre les interactions entre polluants, microorganismes et sols, avec ou sans transport et biotransformation sont :

- l'essai batch, très largement relaté dans la littérature, et relativement facile à mettre en œuvre, assez bien adapté aux équilibres, mais pas toujours représentatif des conditions de terrain où les cinétiques sont prépondérantes,
- les colonnes de sols percolées par un flux constant d'eau et par des créneaux de solutés (traceurs de l'eau ou réactifs). Ces colonnes se rapprochent des conditions de terrain par le rapport eau sur sol et par les conditions d'écoulement, et permettant d'identifier les mécanismes majeurs.
- les lysimètres de sols aux propriétés semi-contrôlées et soumis à des conditions climatiques naturelles ou imposées.

En annexe, une sélection d'articles relatifs à ces trois thèmes est fournie, en relation avec les résultats et mécanismes principaux présentés.

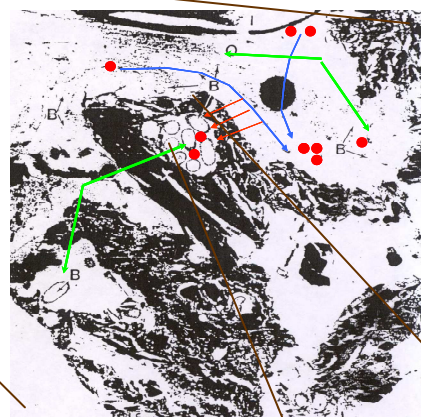
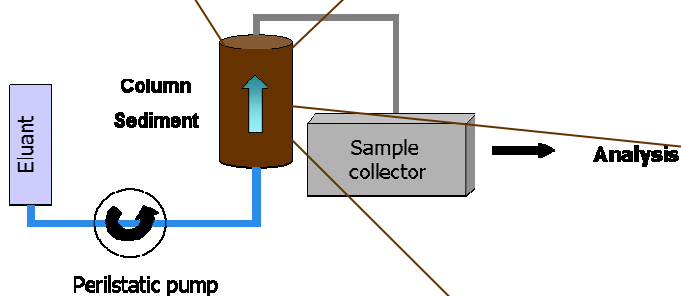
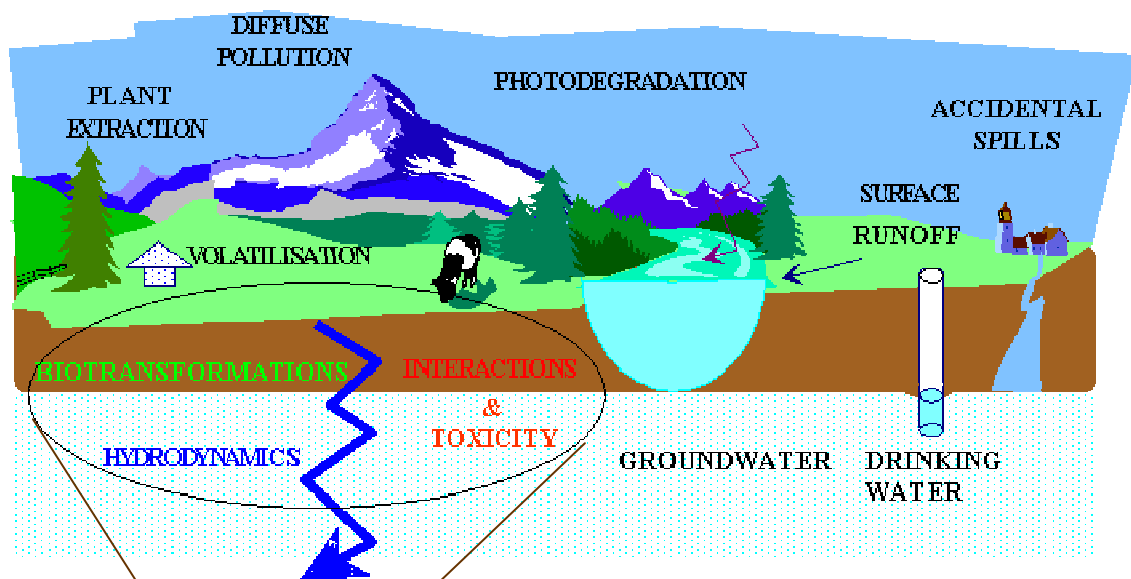
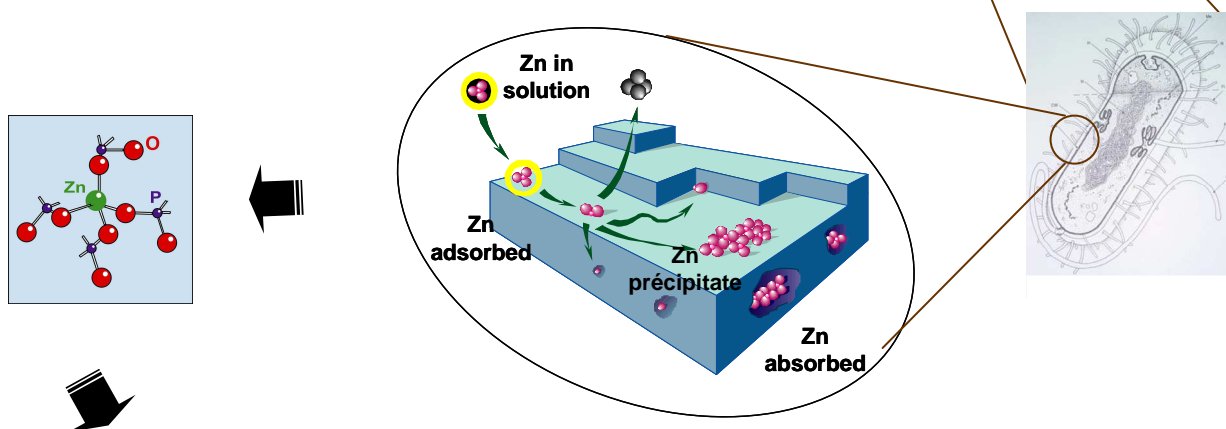


Figure 2 : Démarche scientifique pour l'étude du devenir de micropolluants dans les sols: réductions d'échelles successives de l'échelle mégascopique à la nano-échelle. Couplages pluridisciplinaires et modélisation.



$$\frac{\delta(\rho C_S)}{\delta t} + \frac{\delta(\theta C_L)}{\delta t} + \frac{\delta(\varepsilon_a C_G)}{\delta t} = \frac{\delta}{\delta z} \left(D_L \theta \frac{\delta C_L}{\delta z} - q C_L + D_G \frac{\delta C_G}{\delta z} \right) + \Sigma \Phi_i$$

1. INTRODUCTION

Ces dernières décennies ont vu la mise en évidence de l'existence de perturbations chimiques d'origine anthropique au niveau global et en particulier la présence de micropolluants dans les différents compartiments de la biosphère. De très nombreuses études ont ainsi vu le jour sur cette problématique, avec principalement des approches mono-disciplinaires. Le but de ces études s'intéressant à ces compartiments contaminés est de prévoir *in fine* le devenir des polluants pour établir les risques de contamination de la chaîne alimentaire.

En première approche, la connaissance des teneurs totales en polluants dans les sols permet de déterminer le danger que représentent ces milieux contaminés mais ne suffit pas pour déterminer les risques de migration des polluants vers les nappes (mobilité) ou les risques de passage dans la chaîne trophique (biodisponibilité). Pour établir ces risques, la connaissance des formes physico-chimiques sous lesquelles les polluants se trouvent représente une étape clé pour une prédiction fiable du risque lié à ces micropolluants, lorsqu'ils se retrouvent par exemple dans la solution des sols par laquelle s'effectuent les transferts inter-compartiments (e.g. Jauzein et al. 1989, Sigg et al. 1992, Hunter et al. 1998).

En effet, les sols représentent sans aucun doute le compartiment clef régulant la dynamique globale de ces polluants (et un point d'entrée dans la chaîne alimentaire) qu'ils soient d'origine industrielle, agricole ou naturelle. Ainsi, tôt ou tard ces milieux deviennent les récepteurs de la plupart des micropolluants dont le comportement dans les sols conditionne la manifestation de leur caractère polluant et leur impact sur la biosphère et sur d'autres compartiments de l'environnement. La compréhension de leur devenir dans ces milieux est donc une nécessité et passe par une très bonne connaissance des phénomènes de transfert réactif qui s'y déroulent.

En particulier, les processus de transfert dissous ou associé à de la matière (minérale, organique ou biologique) doivent être décrit précisément pour envisager une prédiction fiable du devenir de micropolluants en milieux poreux complexes et de leur impact. Ainsi, la bonne connaissance des transferts d'eau, d'air, de masse et d'énergie associés, en milieu naturel ou non, est indispensable pour la prédiction du comportement des micropolluants dans les sols à l'aide de modèles plus ou moins sophistiqués. Ces transferts sont sources de pollution des milieux naturels (eau, air, sol) et générateurs de risques pour l'homme et son environnement. Le manque de connaissances et donc l'ampleur du travail de recherche à réaliser sont liés à la complexité du milieu environnant et des phénomènes impliqués qui sont toujours couplés : activité biologique et biotransformations, transferts hydriques, gazeux et particuliers, géochimie de solution...

L'environnement édaphique (ou pédosphère) est souvent décrit comme un milieu très hétérogène. Il possède un certain nombre de caractéristiques statiques : les sols s'élaborent à partir d'une phase solide déterminée par le ou les matériaux issus de l'altération climatique des roches, pénétrée par l'eau et les gaz atmosphériques, associée à la biosphère (végétale et microbienne principalement) et à ses constituants. L'environnement édaphique n'est pas constant pour un site donné : ses caractéristiques varient avec la profondeur (notion d'horizons) et au cours du temps auxquelles se superposent les fluctuations microclimatiques et l'évolution due à l'altération des constituants, aux processus de lessivage, aux transformations des rapports entre les constituants et aux changements de la biosphère.

Cette complexité de l'environnement édaphique n'est pas aléatoire mais résulte du développement de processus dont un certain nombre de termes peuvent être connus de façon statique (Monrozier et al. 1993, Martins and Mermoud, 1998) : texture, organisation des particules, réactivité des surfaces et interactions organo-minérales, et d'autres ne peuvent être appréhendés que de façon dynamique : propriétés hydriques (eau mobile, eau immobile), comportement chromatographique des produits, contacts microorganismes/solutés, dynamique des populations microbiennes, réactions dues aux alternances dessiccation/humectation, transfert de colloïdes... (Gaudet et al. 1977, Hinz et al. 1998, Martins and Mermoud, 1999, Guiné et al. 2003, In prep.).

L'environnement édaphique contient des éléments qui relèvent de la géochimie, de l'agronomie ou de la microbiologie, tandis que les micropolluants sont le plus souvent des produits de l'industrie chimique ou biologique. C'est ainsi que les processus et les règles générales de fonctionnement des sols sont souvent partiellement ou même totalement occultés par des déterminants qui sont connus et utilisables directement par le chimiste, l'agronome ou le microbiologiste agissant chacun avec les objectifs propres à sa discipline.

C'est pourquoi, des approches couplées, intégrées et interdisciplinaires sont incontournables compte tenu de l'hétérogénéité des sols, et sont malheureusement encore trop rares.

Ainsi, il existe dans la littérature une masse considérable de données géochimiques sur les transferts de micropolluants vers les aquifères. Cependant, la plupart des données concernent des modèles minéraux : l'état des connaissances des caractéristiques physico-chimiques de la molécule et des propriétés statiques de l'environnement édaphique (adsorption, porosité) est bien plus évolué pour les modèles minéraux que pour les modèles comportant une phase (ou un soluté) organique. Les relations des polluants avec la phase solide sont, le plus souvent, décrites par un paramètre global comme le K_D , car les données thermodynamiques plus raffinées et précises sont trop peu nombreuses (car plus coûteuses) pour servir à une modélisation transposable.

Cette méconnaissance de l'environnement édaphique conduit ainsi à rechercher des corrélations entre des constituants du sol, éléments considérés comme constants, et le comportement géochimique d'un élément ou d'une molécule : par exemple, le rôle d'adsorbant attribué aux substances organiques constitutives des sols est supposé uniforme, c'est-à-dire qu'on considère que la capacité de rétention des molécules xénobiotiques est proportionnelle à la quantité de carbone présente dans l'échantillon (e.g. Chiou 1979, Karhickof 1980). Ces approches globales, bien que très utiles au niveau opérationnel, peuvent donc paraître simplistes, faute de mieux, et en tout cas difficilement généralisables et donc transposables à d'autres sites du même sol, et à *fortiori* à d'autres sols. En effet, l'environnement édaphique contient des matières organiques qui vont des bio-structures végétales à peine modifiées aux polycondensats humiques et aux exopolysaccharides microbiens ou racinaires avec des capacités d'adsorption variables selon leur nature et leur état physique (Barriuso et al. 1992). Les proportions de ces compartiments sont aussi variables selon l'horizon, la nature de la végétation et la saison : ainsi dans certains sols (de grande culture), les débris végétaux peuvent représenter 40% du C organique à certaines périodes et moins de 10% à d'autres. De même, la synthèse de polysaccharides dépend de la photosynthèse et des relations microorganismes/plantes, leur stabilisation et leur réactivité dépendent de processus physiques comme la dessiccation.

D'autre part, l'évolution de l'environnement édaphique sous l'influence des techniques culturales (travail du sol, apport de fertilisants minéraux, irrigation), ou d'un changement d'occupation du sol, amène à multiplier les essais pour affiner ces coefficients, sans que le degré d'explication en soit beaucoup amélioré. D'autant que le problème d'hétérogénéité spatiale, ou les multi-contaminations compliquent encore le problème.

La localisation des microorganismes, qui conditionne leurs possibilités de contact avec les substances introduites et le type de biotransformation qu'ils effectueront, est aussi une dimension de l'environnement édaphique rarement prise en compte en géochimie, bien que primordiale pour prédire la persistance de micropolluants dans les sols contaminés. La biotransformation de ces micropolluants véhiculés par l'eau ne s'effectuera pas selon les mêmes règles quand la quasi-totalité des microorganismes se situe à la périphérie des sables et des domaines argileux, ou quand ils se distribuent majoritairement à l'intérieur des matrices organiques et des micro-agrégats (e.g. Monrozier et al. 1993, Pallud 2000, Pallud et al. 2004). Une meilleure compréhension de ce paramètre semble également primordiale pour améliorer la prédiction de l'impact des micropolluants dans les sols.

Ainsi, compte tenu de toutes ces contraintes et simplifications, la prévision fiable de la réalité du transfert de micropolluants dans les nappes n'est correcte, actuellement, que pour les systèmes les plus simples et à granulométrie grossière, pratiquement dépourvus de colloïdes, en particulier de colloïdes organiques. Dans ces conditions, on notera que le court temps de résidence limite aussi les possibilités de biotransformation : le risque de transfert rapide de micropolluants est alors assez bien évalué par les caractéristiques hydrodynamiques. Ce type de modèle de transfert est, par exemple, inapplicable à un sol dans lequel l'eau véhicule non seulement des solutés (lixiviation), mais aussi des particules colloïdales (lessivage) sur une fraction de son parcours, dans une matrice dont les propriétés varient avec le potentiel hydrique et avec la profondeur en fonction de la nature et de la structure des différents horizons. C'est donc sur ce type de milieux qu'il faut aujourd'hui concentrer nos efforts, car les plus représentatifs de nos régions et sans doute les plus vulnérables, en raison notamment de l'importance des phénomènes de transport facilité des polluants par des particules solides, de petite taille, et très mobiles dans le sol (Guiné et al. 2003, Citeau et al. 2003, de Jonge et al. 2004). En effet, le rôle de ces colloïdes dans la dynamique globale des polluants dépend en grande partie de leur abondance, de leurs propriétés de surface et de leur réactivité vis-à-vis de ces polluants, qu'ils soient organiques ou métalliques.

En conclusion, on peut donc dire que ce qui constitue sans doute la perturbation réelle pour l'environnement édaphique est en fait la localisation et la dose des micropolluants dans le sol et leur évolution liée notamment aux processus microbiens et de transfert réactifs qui s'y déroulent, eux-mêmes très influencés par la texture et la structure des sols, qui contrôlent les différents temps caractéristiques (temps de séjour, de contact, réactionnels, cinétiques...).

C'est sur ce constat que j'ai bâti l'ensemble de mes travaux de recherche sur le devenir et l'impact de micropolluants dans les sols, et que je construis mes perspectives de recherche (e.g. projets EC2CO, MOBIPO-Cu et ANR Mimic-Biofilms). Ainsi, tout au long de mes travaux, j'ai adopté volontairement une approche interdisciplinaire et couplée, plutôt que des démarches très spécifiques et mono-disciplinaires, plus séduisantes en termes de reconnaissance, mais probablement moins adaptées à la réalité complexe de la problématique.

Ainsi, par une approche couplée et multi-échelle, je me suis intéressé aux processus contrôlant la réactivité des polluants dans les sols, responsables de leur localisation et de leur concentration, et donc de leur toxicité potentielle (dose-effet). En parallèle, je me suis intéressé aux processus microbiens affectant l'évolution de ces polluants dans le sol : bio-fixation, biotransformations, stabilisation, bioremédiation. Enfin, j'ai étudié le transfert réactif de micropolluants modèles organiques ou métalliques en colonnes ou lysimètres de sols, saturés ou non en eau. Dans chaque cas présenté, j'ai essayé de mener en parallèle une approche de modélisation la plus adaptée à la situation rencontrée, que j'ai décrit succinctement dans ces 3 sections. Les divers polluants organiques et inorganiques modèles et microorganismes étudiés sont présentés dans les tableaux 1, 2 et 3 suivants.

Tableau 1. Récapitulatif des composés organiques étudiés

Micropolluant	Cadre principal	Référence
Atrazine	Thèse D. Zhang 2003	Mermoud et al. 2008
Dinitrophénols	Post-Doctorat Martins 1998	Martins and Mermoud 1998
Isoproturon	Post-Doctorat Normand 1999	Martins et al. In prep.
Paclobutrazol	Thèse M. Milfont 2006	Milfont et al. 2008
Pendiméthaline	Thèse L. Spack 1997	Spack et al. 1998
Pentachlorophénol	Thèse J. Martins 1993	Martins et al. 1997
Phénol	Thèse M. Karrabi 2008	Karrabi et al. 2008
Pyranine	Thèse P. Furi 1996	Moser-Boroumand et al. 1997
Rhodamine	Thèse P. Furi 1996	Moser-Boroumand et al. 1997
Rimsulfuron	Thèse M. Mielbradt-Levin 1996	Martins et al. 1999, 2001

Tableau 2. Récapitulatif des éléments métalliques étudiés

Micropolluant	Cadre principal	Référence
Cd	Thèse V. Guiné 2006	Guiné et al. 2006, 2007
Cr	Master J. Morel 2007	Morel 2007
Cu	Thèse D. Lejon 2007	Lejon et al. 2007, 2008
Hg	Master S. Szenknect 2001	Martins and Nazaret 2001
Se	Thèse A. Zobieralska 2004	Martins et al. 2001
Zn	Thèse V. Guiné 2006	Guiné et al. 2006, 2007

Tableau 3. Récapitulatif des bactéries étudiées

Souche bactérienne	Cadre principal	Référence
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> C58gmi	Thèse V. Guiné 2006	Martins and Nazaret 2001
<i>Alcaligenes eutrophus</i> AE104	Master J. Morel 2007	Guiné et al. 2006, 2007
<i>Cupriavidus metalidurans</i> CH34	Thèse V. Guiné 2006	Guiné et al. 2006, 2007
<i>Escherichia coli</i> K12DH5 α	Thèse V. Guiné 2006	Guiné et al. 2006
<i>Escherichia coli</i> pRB28	Master J. Broussillon 2003	Martins and Nazaret 2001
<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	Thèse S. Morin 2008	Morin et al. 2008a, b
<i>Pseudomonas fluorescens</i> DF57	Thèse D.P.H. Lejon 2007	Lejon et al. 2007, 2008
<i>Pseudomonas putida</i> ATCC 12633	Thèse V. Guiné 2006	Guiné et al. 2006
<i>Pseudomonas putida</i> 6521	Thèse M. Karrabi 2008	Karrabi et al. 2008
<i>Rhodococcus chlorophenolicus</i>	Thèse J. Martins 1993	Martins 1993
<i>Xanthomonas campestris</i>	Thèse B. Causse 2009	Causse et al. 2008.

2. Réactivité et sorption des micropolluants dans les sols

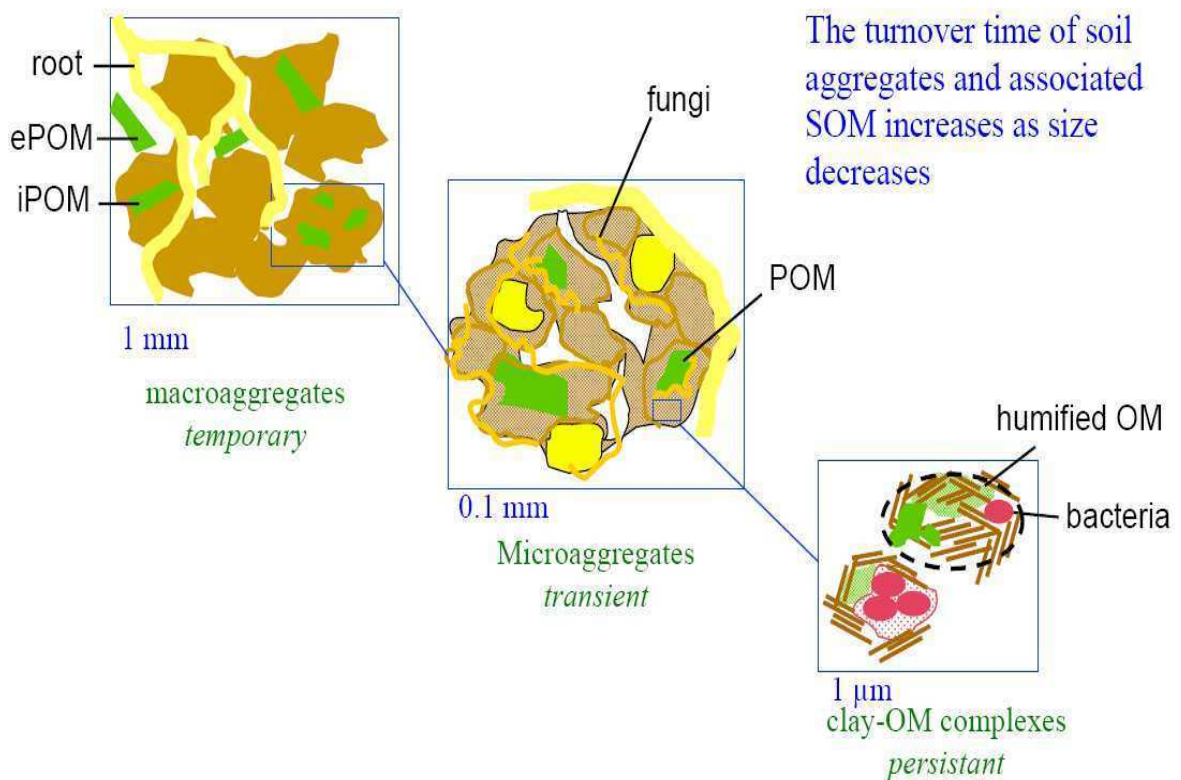


Figure 3 : Illustration de la structuration des sols en micro-agrégats et leur durée de vie dans les sols naturels (adapté de M. Robert 2002 d'après communication personnelle de C. Chenu)

2.1. Introduction

Parmi les processus contrôlant le comportement des micropolluants introduits dans les sols, les phénomènes d'interactions avec les constituants des matrices poreuses sont parmi les plus importants, puisqu'ils vont conditionner l'aptitude de ces molécules ou éléments à être mobilisés plus ou moins rapidement par l'eau du sol (e.g. van Genuchten et al. 1976, Hinz et al. 1998, Martins and Mermoud 1998, Milfont et al. 2008) et ainsi à polluer les eaux souterraines. Il apparaît donc primordial de pouvoir comprendre la nature des interactions intervenant entre un soluté donné et un adsorbant donné si l'on veut pouvoir représenter et prédire ces interactions de manière fiable. Mais on se rend compte qu'un tel objectif est relativement difficile à atteindre dans la mesure où l'on est confronté à des contraintes comme la complexité et la variabilité spatio-temporelle des milieux poreux naturels (Jacques et al. 1999, Nkedi-Kizza et al. 2006, Mermoud et al. 2008, Martins et al. In prep), la grande diversité des micropolluants organiques ou métalliques disséminés dans l'environnement, mais aussi le coût financier et en temps d'une expérimentation fine nécessaire pour chaque cas rencontré (Schweich and Sardin 1981, Mermoud et al. 2008).

De plus, un grand nombre de propriétés des sols contrôlent la réactivité vis-à-vis de ces polluants. C'est le cas en particulier du pH (Martins and Mermoud 1999), de la teneur en matière organique (Selim and Iskandar 1999, Allen-King et al. 2002, Milfont et al. 2008), de la structure et de la texture du sol, de son aération et donc de sa teneur en eau ou encore du régime hydrique influant sur les vitesses de transfert, ou des pratiques de terrain (Gaudet et al. 1977, Martins 1993, Flury 1996, Hillel 1998).

D'une manière globale, ces processus de sorption sont intégrés dans les phénomènes de rétention ou de fixation des micropolluants qui correspondent essentiellement aux processus d'adsorption au sens large incluant l'absorption par la matrice solide ou par les organismes du sol, en particulier les plantes ou les microorganismes. En effet, par les approches classiques, il est relativement difficile de distinguer entre de l'adsorption vraie (interactions réversibles de faible énergie entraînant la formation de couches moléculaires à la surface d'un constituant solide du sol), de la précipitation, des liaisons covalentes ou encore de l'absorption par la matière organique ou l'adsorption et absorption par les microorganismes (Guiné et al. 2006, Yaneva and Koumanova 2006, Milfont et al. 2008).

De plus, la plupart des processus impliqués dans la rétention des polluants par les sols sont évolutifs, avec des modifications sensibles selon leur temps de résidence dans les sols (e.g. Loehr and Webster 1986, Bollag et al. 1998). Ceci se comprend aisément à l'aide de la figure 3 qui présente une illustration largement répandue dans les ouvrages de microbiologie du sol (e.g. Paul and Clark, 1992), qui montre que la structure des sols n'est pas une propriété constante mais bien évolutive, notamment en raison de la durée de vie variable des différentes sous structures qui les constituent, les agrégats. Les agrégats des sols sont des assemblages de particules minérales, organiques et biologiques qui contrôlent très largement les processus hydrodynamiques (micro- et macro-porosités), géochimiques (potentiel redox variable à l'échelle sub-millimétrique), ou biologiques (formation de différents habitats microbiens).

Dans les phénomènes de rétention, ceci se traduit souvent par l'incomplète réversibilité des phénomènes d'interaction avec la matrice solide, organo-minérale avec le temps (Barriuso *et al.* 1992, Scheunert, 1992, Hatzinger and Alexander, 1995, Chung and Alexander, 1998, Martins and Mermoud 1998, Loiseau et al. 2002, Milfont et al. 2008). Cette évolution correspond à la stabilisation des polluants qui provoque le plus souvent une diminution de leur mobilité et un ralentissement de leur biotransformation. Ceci est souvent assimilé à la phase de formation de résidus de polluants non (ou difficilement) extractibles, appelés "*résidus liés*" (Mathur et al. 1975, Lichtenstein *et al.* 1977, Benoit 1994, Ragle *et al.* 1997). L'apparition de "*résidus liés*" est le plus souvent considérée comme un des processus de dissipation contribuant à l'élimination du polluant ou à la détoxification du sol. La plupart des molécules polluantes sont susceptibles de former des "*résidus liés*" ou des complexes de sphère interne, pour les métaux, dans les sols avec des taux variables, mais pouvant représenter jusqu'à 90% des quantités initialement appliquées (Calderbank, 1989). Une corrélation directe existe entre le taux de formation de "*résidus liés*" et la teneur totale en matière organique des sols (Calderbank, 1989, Scheunert et Schröder, 1998). Cependant, assez peu d'informations sont disponibles sur les structures chimiques associées à cette stabilisation et donc sur leur éventuelle toxicité à moyen ou long terme et sur l'échelle de temps de leur stabilisation. Ceci constitue ainsi une voie de recherche importante dans le domaine de la détoxification des sols.

En effet, des modifications de la stabilité des structures solides de stockage, par des variations des conditions climatiques ou de l'usage des sols, peuvent rendre accessibles des structures organiques

qui étaient protégées des microorganismes et libérer ainsi des polluants piégés, lors de leur dégradation (Loiseau et al. 2000, Lejon et al. 2008, Sébastia et al. 2008).

Dans ce contexte, l'étude du devenir physico-chimique d'une molécule introduite dans un sol, compte tenu de sa complexité, est souvent réduite à l'étude des mécanismes d'interaction solide-liquide mis en jeu. L'expérience ayant validé cette vision réductrice des phénomènes, on a cherché alors à les représenter le plus simplement possible, mais toujours en accord avec l'expérience (approche phénoménologique).

Cette approche systémique consiste à établir des lois de comportement très générales permettant la distinction de plusieurs classes de processus mais en conservant un pouvoir prédictif satisfaisant. Sont apparues alors de nombreuses relations empiriques comme par exemple le modèle de Freundlich faisant apparaître des paramètres macroscopiques très commodes d'utilisation mais pas forcément représentatifs de la réalité. Non pas parce que ces modèles sont inadaptés, mais plutôt parce que l'expérimentateur n'a pas pu dégager le mécanisme intervenant effectivement. La représentation obtenue peut être due à plusieurs mécanismes pouvant entraîner des comportements très différents sur le terrain (Laudelout & Schweich 1986) en raison de la non-linéarité de la relation.

D'une façon générale, l'estimation de ces paramètres plutôt macroscopiques, ne donne qu'une approximation de la réalité, qui peut toutefois s'avérer suffisante selon les objectifs de prédiction souhaités, dans la mesure où ces coefficients sont obtenus, par définition, en conditions d'équilibre alors que les interactions en conditions hydrodynamiques suivent la plupart du temps des lois cinétiques *in situ* (e.g. Allen-King et al. 2002). La caractérisation puis la quantification des phénomènes cinétiques doivent donc logiquement venir compléter les lois d'équilibre pour pouvoir décrire au mieux les interactions liquide-solide dans le cadre de la modélisation de ces phénomènes.

Ainsi, la compréhension du devenir physico-chimique d'un micropolluant modèle, minéral ou organique, susceptible d'être véhiculé par l'eau implique schématiquement de déterminer en quelles quantités cette molécule va se partager entre les différentes phases du sol, mais surtout de quelle manière et avec quelle vitesse elle le fera.

En conclusion, on peut donc décrire les interactions des micropolluants avec les sols par 4 phénomènes principaux (Laudelout and Schweich 1986, Martins 1993) :

- La *structure de l'écoulement*, un écosystème est toujours ouvert et parcouru par des fluides (eau, gaz).
- Les *lois d'équilibres* entre le solide et le fluide régissant la partition d'une molécule dans un système naturel et donnant accès aux quantités potentiellement adsorbables.
- Les *lois cinétiques* de mise en équilibre donnant accès aux quantités réellement fixées, dépendantes des temps de séjours.
- La *nature des surfaces solides* dont dépendent les lois d'équilibre, alors que *leur géométrie* conditionne plutôt la structure de l'écoulement et l'accessibilité des sites réactionnels, donc les lois cinétiques.

Les sols étant constitués normalement de trois phases : solide (entre 60 et 40%), liquide (entre 10 et 60%) et gazeuse (entre 0 et 50%), on est amené à définir 3 interfaces possibles : solide-liquide, solide-gaz et liquide-gaz. On peut même rajouter l'interface liquide-liquide, dans la mesure où l'eau du sol peut être considérée comme divisée en une fraction d'eau mobile et une fraction d'eau immobile (eau morte, eau absorbée...) (Gaudet et al. 1977, van Genuchten and Wagenet 1989) dont les propriétés physico-chimiques sont différentes.

Dans le cadre des études sur les micropolluants, les interfaces liquide-gaz et solide-gaz doivent être prises en considération, dans le cas où l'on étudie le devenir d'une molécule volatile susceptible de se retrouver dans l'atmosphère du sol en concentration non négligeable. On pourra alors se référer en particulier à l'ouvrage de Zarzycki (1993) qui présente les bases théoriques de l'absorption des composés gazeux par les liquides ainsi que leur désorption et des exemples d'applications.

2.2. Modélisation de la sorption des micropolluants dans les sols

La modélisation de l'adsorption des micropolluants dans les sols peut être représentée de différentes façons selon le degré de sophistication des modèles utilisés, mais surtout de la qualité souhaitée des

prédictions. Ainsi, dans la plupart des cas, une simple approche basée sur le concept de K_D ou du K_{OC} sera suffisante. Dans des cas plus complexes, la bonne représentation des résultats nécessitera l'emploi de cinétiques de sorption voire de modèles non linéaires plus ou moins déterministes. Ces différentes approches de modélisation sont présentées ci-dessous.

2.2.1 Isotherme d'adsorption linéaire

La relation $s_j(c_j)$ la plus simple (e.g. Martins and Mermoud 1998, Allen-King et al. 2002, Milfont et al. 2008) :

$$s_j = K_d \cdot c_j \quad [1]$$

correspond à une adsorption linéaire, instantanée et réversible. Elle fait intervenir principalement des forces de liaison de type van der Waals, et est toujours limitée à de faibles concentrations c_j dans la phase liquide. K_d [$L^3 M^{-1}$] est le coefficient de partage (constant), de l'élément j , entre les phases liquide et solide.

Très souvent on considère que l'adsorption sur la matière organique est le mécanisme prépondérant, (vrai pour les composés organiques neutre ou hydrophobes et la plupart des métaux lourds). On transforme alors le paramètre K_D en un paramètre plus générique et surtout plus facile à prédire sur la base des propriétés d'hydrophobie du micropolluant : le K_{OC} (Martins and Mermoud 1998, Allen-King et al. 2002) :

$$K_{OC} = \frac{K_D}{OC\%} \quad [2]$$

où $OC\%$ est le pourcentage de carbone organique du sol.

2.2.2 Cinétiques d'adsorption

Si l'interaction (généralement de surface) entre l'élément j et le solide n'est pas instantanée, on considère souvent une cinétique du premier ordre, avec un équilibre régi par [1], soit (Lagergren 1898, Laudelout & Schweich 1986, Martins 1993, Yaneva and Koumanova, 2006, Milfont et al. 2008) :

$$\frac{\partial s_j}{\partial t} = \alpha_{ads} \cdot (K_d \cdot c_j - s_j) \quad \text{et} \quad \alpha_{ads} = \frac{1}{T_M} \quad [3]$$

où le coefficient d'échange α_{ads} [T^{-1}] est supposé constant. α_{ads} correspond au terme $1/T_M$, où T_M est le temps caractéristique du transfert de matière entre l'eau et le solide.

Cette cinétique peut être due à des mécanismes physiques (diffusion moléculaire) et/ou chimiques (réactions) (Martins 1993, Selim 1999, Milfont et al. 2008).

Certains micropolluants suivent une cinétique de sorption du second ordre que l'on peut alors exprimer par (Yaneva and Koumanova, 2006, Milfont et al. 2008) :

$$\frac{dS_t}{dt} = k_2 (S_{e2} - S_t)^2 \quad [4]$$

où S_{e2} et S_t sont les capacités de sorption ($M M^{-1}$) à l'équilibre et au temps t , respectivement. k_2 est la constante du taux de sorption du second ordre ($M M^{-1} M^{-1}$). La forme intégrée de cette équation est décrite en détail dans Milfont et al. (2008).

2.2.3 Isothermes d'adsorption non linéaire

Le nombre de sites interactifs sur la surface du solide étant fini, l'adsorption tend vers une limite supérieure. Ce comportement est bien représenté par une isotherme de type Langmuir :

$$s_j = s_{\max} \cdot \frac{\omega \cdot c_j}{1 + \omega \cdot c_j} \quad [5]$$

où s_{\max} est la valeur maximale atteinte par la concentration s_j de l'élément j sur (et dans) le solide, liée au nombre de sites disponibles ; ω est un paramètre de calage (le produit $\omega \cdot s_{\max}$ est la pente de l'isotherme pour les faibles valeurs de c_j).

Pour décrire une isotherme d'adsorption non linéaire, une autre représentation souvent utilisée est le modèle phénoménologique dit de Freundlich (e.g. Limousin et al. 2007) :

$$s_j = \alpha c_j^\beta \quad [6]$$

Les coefficients empiriques α et β sont obtenus par ajustement. Selon la valeur de β (supérieure ou inférieure à 1), la concavité de l'isotherme est différente et le transfert dans le sol en est affecté (Schweich and Sardin 1981). Le modèle linéaire [1] est un cas particulier de [6].

Bien entendu il existe des modèles plus complexes pour représenter des isothermes de formes plus compliquées (en S ou en paliers successifs...) que je ne détaillerais pas car ces deux modèles permettent de décrire une très large gamme d'isothermes de sorption de micropolluants, dont ceux présentés dans ce mémoire.

2.3. Facteurs contrôlant l'adsorption des micropolluants dans les sols

Les résultats de mes travaux sur l'étude de l'adsorption de micropolluants dans les sols présentés ci-après concernent les interactions des micropolluants avec les constituants abiotiques (minéraux et matière organique) et biotiques (microorganismes) des sols et leur modélisation. Ces travaux ont été menés dans la mesure du possible au travers d'une approche couplée de physique et microbiologie du sol, de chimie de solution (batch) et de spectroscopie ou microscopie (spectroscopie EXAFS, MEB-et MET-EDX).

L'étude du devenir et de la réactivité de polluants organiques dans les sols a été menée notamment dans le cadre de ma thèse (pentachlorophénol) (Martins 1993, Martins et al. 1997), et mon post-doctorat (herbicides dinitrophénols et sulfonilurées) (Martins and Mermoud 1998, 1999), mais aussi dans le cadre de différentes thèses que j'ai co-encadrées, et notamment la thèse de Danrong Zhang (EPFL, CH) sur la réactivité de l'atrazine et du dinosébe dans les sols alluviaux (Mermoud et al. 2008), de la thèse de Véronique Guiné sur la réactivité des bactéries avec les métaux lourds (Guiné et al. 2006, 2007), de la thèse de Lionel Spack sur la pendiméthaline (Spack et al. 1998) ou de la thèse de Monica Milfont (Univ. Pernambuco, Br) sur l'adsorption du paclobutrazol dans deux sols dégradés du Brésil (Milfont et al. 2008). L'adsorption de métaux lourds sur des microorganismes a été étudié dans le cadre de la thèse de V. Guiné (Guiné et al. 2006, 2007).

Dans cette première partie, je présenterais également des résultats concernant des résultats de travaux visant à mieux comprendre l'effet limitant de certains facteurs pour la prédiction des phénomènes de rétention de micropolluants dans les sols : les aspects cinétiques, la sorption non linéaire, la force ionique ainsi que la variabilité spatiale des sols à petite (centimétrique : batch) et moyenne (m à Dam) échelle. L'influence de ces différents aspects sur la modélisation de la sorption des micropolluants et sur la qualité des prédictions attendues est également discutée.

2.3.1 La cinétique de sorption

L'étude des processus de sorption a été menée dans le cadre de différents projets de recherche et concernent par exemple l'adsorption du paclobutrazol (Milfont 2006, Milfont et al. 2008) dans un vertissol et un argisol du Brésil, ou encore des dinitrophénols dans un sol alluvial (Zhang 2003, Mermoud et al. 2008). Dans ce dernier cas, une modélisation par une cinétique de premier ordre a suffi pour obtenir une bonne représentation du comportement de ces composés, tandis que pour le paclobutrazol, qui est une molécule plus complexe, le processus d'adsorption suit une cinétique de second ordre (Figure 4) (Milfont et al. 2008).

En effet, bien que relativement rapides, les interactions de surface de ce composé avec les constituants des sols ne sont pas instantanées, ce qui nous a amenés à considérer des effets cinétiques dont l'origine peut être liée à différents facteurs tels que la diffusion à l'intérieur des micro-agrégats de sols vers les surfaces réactives ou encore une cinétique de la réaction d'adsorption elle-même, comme cela a déjà été largement décrit (Lagergren 1898, Martins 1993, Yaneva and Koumanova, 2006).

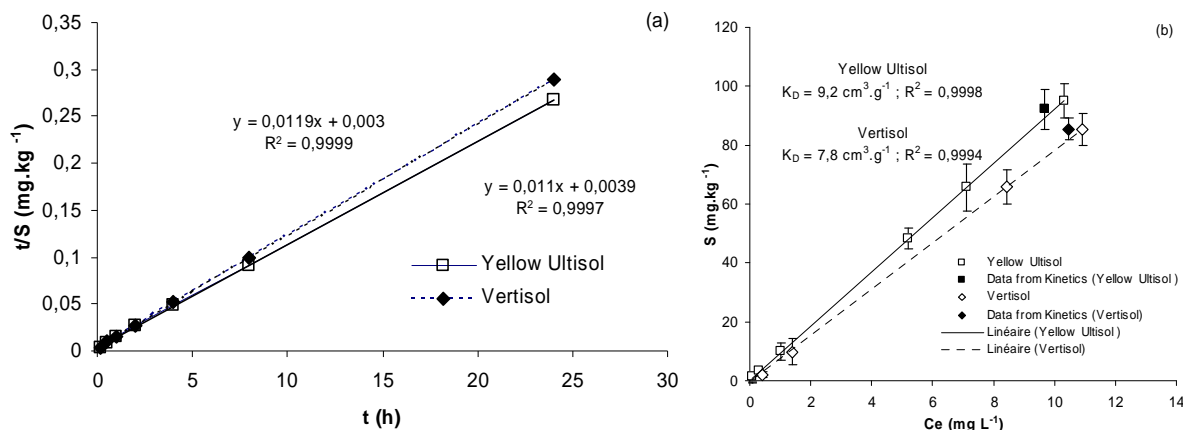


Figure 4 : (a) Cinétiques d'adsorption de second ordre ([Eq. 4]) linéarisées du paclobutrazol dans un argisol et un vertisol du Brésil. (b) Isothermes d'adsorption du paclobutrazol représentées par un modèle linéaire [Eq. 1]. (Milfont et al. 2008).

Cette cinétique de second ordre indique une réaction de sorption relativement complexe de ce produit sur les sols étudiés avec probablement un contrôle des interactions par plusieurs facteurs simultanément. Un effet des oxydes de fer a également été montré, confirmant ainsi la complexité des mécanismes impliqués : adsorption sur la matière organique et sur les oxydes de fer des sols, transferts de masse inter-compartiments....

Ce dernier point peut être conceptualisé par le schéma présenté dans la figure 5 (Martins 1993) qui montre que le temps caractéristique du mécanisme de sorption, c'est-à-dire la cinétique de réaction de surface, peut être contrôlé par différents processus correspondant au transfert du micropolluant entre les différents compartiments et interfaces représentés. Chacun est alors caractérisé par son propre temps caractéristique.

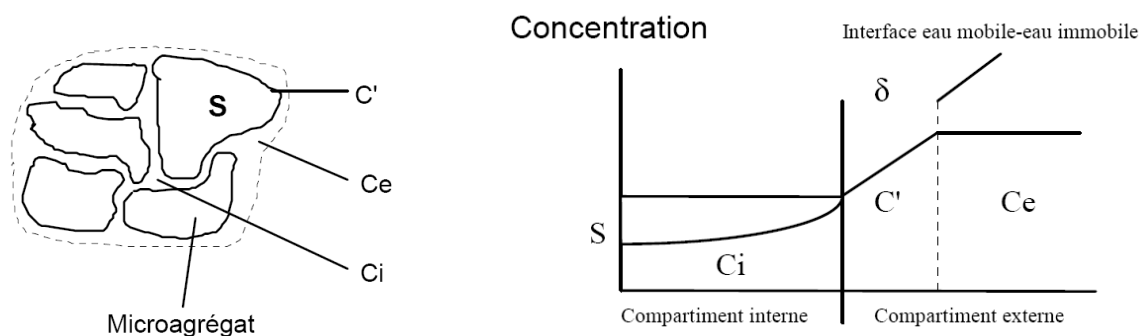


Figure 5 : Schéma d'un agrégat structural de sol et représentation des cinétiques de transfert de masse avec un profil possible de concentration en soluté dans les différentes phases (Martins 1993)

En effet, le paramètre T_M , ([Eq.3]) peut être décomposé en trois éléments :

$$T_M = t_a + t_e + t_i \quad [7]$$

où t_a est le temps caractéristique du mécanisme d'adsorption, t_i le temps caractéristique du transfert interne et t_e celui du transfert externe.

En règle générale, T_M est assimilé au temps caractéristique du processus limitant (temps le plus grand) les autres étapes sont alors considérées à l'équilibre (figure 5).

La plupart de mes travaux sur ces aspects cinétiques ont montré que pour des molécules de poids moléculaire élevé, ou de structure chimique complexe (macromolécules, molécules polycycliques...), la prise en compte de cinétiques d'adsorption dans la modélisation de leur transfert réactif, est absolument indispensable pour une prédiction correcte de ce processus. Pour certaines d'entre elles, des cinétiques de sorption ou de désorption de plusieurs mois ont pu être observées (e.g. Brusseau et al. 1991, Pignatello and Xing 1996, Spack et al. 1998). En revanche, pour les polluants inorganiques que j'ai étudiés, essentiellement des métaux tels que le Zn, Hg, Cd, ou Cu, les cinétiques de sorption sont quasiment instantanées (e.g. Guiné et al. 2003, Guiné and Martins 2008).

La caractérisation puis la quantification des phénomènes cinétiques doivent donc logiquement venir compléter les lois d'équilibre pour pouvoir décrire au mieux les interactions liquide-solide dans le cadre de la modélisation de ces phénomènes.

2.3.2. Rôle de la matière organique

L'importance de la matière organique dans le contrôle des processus d'adsorption des micropolluants est reconnue depuis longtemps (e.g. Chiou et al. 1979, Karickhoff et al. 1979). Ce phénomène a conduit de nombreux auteurs à proposer des lois de comportement des micropolluants basées principalement sur ce paramètre pour prédire leur mobilité dans les sols, c'est le concept de K_{OC} (Eq.2). Bien que très largement acceptés, les mécanismes qui sont derrière ce paramètre ne sont toujours pas clairs. Ainsi aujourd'hui, on ignore toujours si l'adsorption des micropolluants sur la MO correspond plutôt à de l'adsorption ou à de l'absorption, qui implique des mécanismes et des cinétiques bien différentes (Houot et al. 1997, Endo et al. 2008).

L'absorption des micropolluants dans le réseau de la matière organique est connu pour être largement responsable des processus de formation de résidus liés (e.g. Barriuso et al. 1992, Selim and Zhu, 2005) qui correspondent à une forme protégée de ces composés qui, sur le long terme, présentent un risque potentiel de relargage massif sous des conditions plus favorables, en liaison avec l'activité microbienne responsable de la dégradation de la matière organique. De nouvelles approches faisant appel à des molécules permettant de tracer la localisation des composés organiques dans les différents constituants des sols (Endo et al. 2008) ont vu le jour récemment et sont très prometteuses quand à la compréhension de la distribution des micropolluants dans ou sur la MO des sols.

Ce dernier volet correspond à un des objectifs principaux de mes recherches actuelles, conduites notamment dans le cadre de deux projets de recherche successifs (ECCO-Ecodyn 2003-2006 et EC2CO-Cytrix 2007-2010) sur l'effet de l'évolution de la MO d'un sol viticole sur le devenir et l'impact du cuivre utilisé comme fongicide (Lejon et al. 2007, 2008). Mes objectifs dans le cadre de ces projets sont de comprendre comment la spéciation et les interactions du cuivre modifient sa biodisponibilité dans le sol, et donc sa toxicité et sa mobilité (Thèse d'Aline Navel qui va débiter au 1^{er} octobre 2008).

Pour la majorité des polluants étudiés, j'ai essayé de préciser les principales lois décrivant leur adsorption à l'équilibre ainsi que les lois cinétiques, et dans quelle mesure elles peuvent être utilisées pour décrire les processus de fixation en conditions naturelles (Martins and Mermoud 1998, 1999).

La plupart des polluants modèles que j'ai étudiés se sont avérés très réactifs vis-à-vis de la matière organique des sols comme le montrent par exemple les figures 6, 7 ou 8, où l'on voit clairement et présenté de manière différente, une relation linéaire entre le taux de carbone organique du sol et la valeur du K_D de l'atrazine et du dinosèbe, de l'isoproturon, de dinitrophénols, mesurées dans des sols naturels (Martins and Mermoud 1998, Mermoud et al. 2008, Martins et al. In prep.).

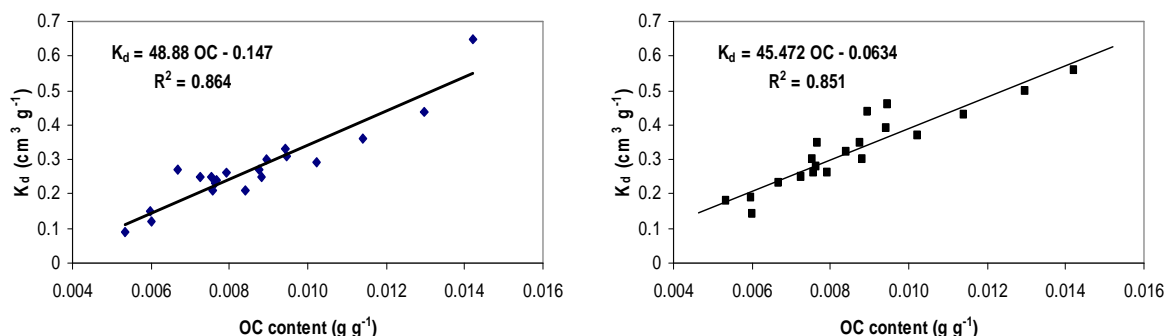


Figure 6 : Relation entre le taux de carbone organique du sol alluvial du site de Charrat (CH) et les coefficients de distribution du dinosèbe (Gauche) et de l'atrazine (droite) (Mermoud et al. 2008)

Ainsi, dans mes différents travaux sur l'adsorption de micropolluants, qu'ils soient organiques ou métalliques (pentachlorophénol, atrazine, isoproturon, dinosébe, cuivre, mercure, sans oublier les HAP), j'ai observé que la MO contrôle largement les processus de sorption dans les sols. Un des exemples les plus frappants est présenté dans la figure 7 (gauche) où l'on peut observer les profils verticaux du taux de carbone organique du sol sous maïs du site des Carrés (Loiret-F), et celui du coefficient de partage sol-eau (K_D) de l'isoproturon. La similitude des deux profils verticaux montre bien le contrôle de la sorption de ce type de molécules organiques simples par la matière organique des sols. Le K_{OC} de cette molécule peut ainsi être déterminé de manière simple (Fig. 7, droite).

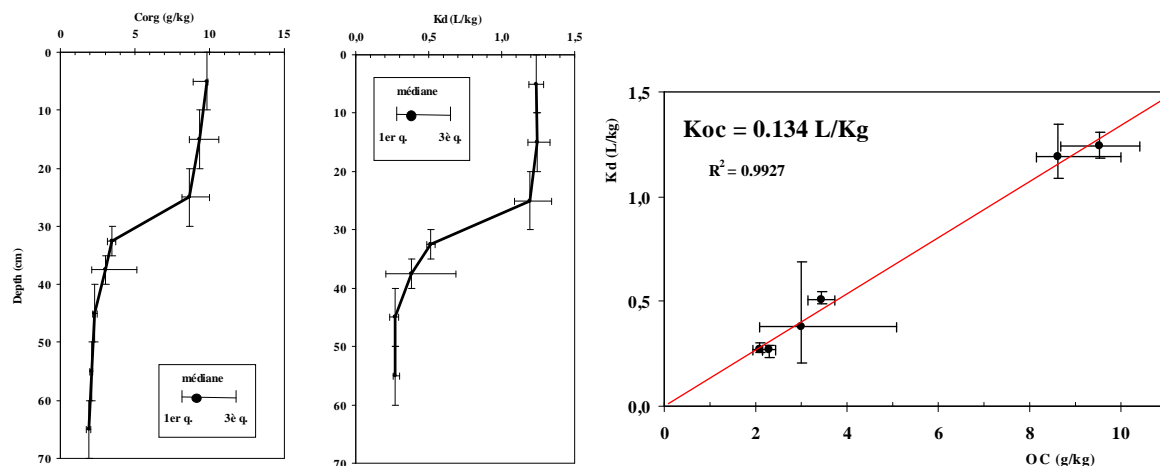


Figure 7 : *Gauche.* Evolution verticale du taux de carbone organique du sol des Carrés (F-45) et du coefficient de distribution, K_D , de l'isoproturon. *Droite.* Relation entre le taux de carbone organique du sol et le coefficient de distribution de l'isoproturon. La pente de la droite correspond au K_{OC} de l'isoproturon (Martins et al. In Prep.).

Comme la détermination du paramètre K_{OC} nécessite des essais expérimentaux lourds (essais en batch avec divers sols aux taux de MO variables), de nombreux auteurs ont proposé des relations empiriques basées sur des propriétés intrinsèques des molécules, tel que le paramètre K_{OW} qui traduit l'affinité de cette molécule pour une phase aqueuse ou une phase organique sensée représenter la matière organique, la plus courante étant l'octanol.

Ainsi, dans une étude de sorption sur 4 dinitrophénols (Figure 8), j'ai obtenu la relation suivante [Eq. 9], très proche de celle de Gerstl (1990) [Eq. 9] observée pour des dinitroanilines, validant ainsi ce type d'approche pour des familles de molécules proches :

$$\text{Log } K_{OC} = 0,421 + 0,44 \text{ log } K_{OW} \quad [8]$$

$$\text{Log } K_{OC} = 1,787 + 0,43 \text{ log } K_{OW} \quad [9]$$

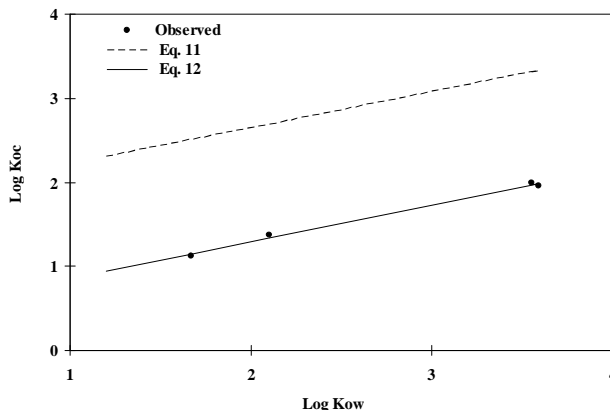


Figure 8 : Relation log-linéaire entre le K_{OC} de 4 dinitrophénols mesurés dans un sol alluvial limono-sableux et leur coefficient de distribution octanol – eau (K_{OW}). Modélisation à l'aide du modèle proposé par Gerstl (1990) (Eq.9) (Martins and Mermoud 1998).

Compte tenu de la très grande diversité de molécules produites par l'industrie chimique ou agroalimentaire, seules des approches globales de ce type pourront permettre à l'avenir de prédire avec une fiabilité correcte (dépendante des objectifs affichés) le comportement et l'impact de ces polluants dans l'environnement, ce qui est un des objectifs principaux de la directive européenne REACH. En effet, il est bien évident que développer des études spécifiques pour chaque molécule est difficilement réalisable et n'est pas soutenable financièrement.

Suivant le niveau de précision souhaitée dans la prédiction, ce type d'approche globale peut s'avérer largement suffisante, comme j'ai pu le montrer pour certains polluants, pour lesquels j'ai prédit le comportement dans les sols, sur la base de leurs propriétés intrinsèques, telles que leur solubilité (Martins 1993) ou leur coefficient de partage octanol-eau, K_{OW} (9) (Martins and Mermoud 1998). Ceci m'a également permis de prédire de manière satisfaisante leur transfert réactif dans des sols naturels à partir du seul taux de carbone organique des sols (Milfont et al. 2008, Mermoud et al. 2008).

2.3.3. Rôle de la force ionique

L'effet de la force ionique sur l'adsorption des micropolluants est un phénomène aujourd'hui bien connu et largement représenté au travers de différentes théories décrivant les interactions électrostatiques intervenant à la surface de toute particule solide.

La théorie la plus largement utilisée est la théorie DLVO (Figure 9). Cette théorie prédit que l'effet de variations de la force ionique de la solution du sol, et plus généralement l'ambiance ionique, est de modifier la charge des surfaces solides des constituants des sols mais aussi celle des polluants, qu'ils soient organiques ou métalliques, ce qui modifie alors leur capacité de sorption.

La force ionique de la solution du sol contrôle l'épaisseur de la couche ionique diffuse (ou couche de Nernst, selon le modèle de représentation adopté) entourant les particules de sol (figure 9) et permet ainsi le rapprochement ou l'éloignement du polluant et de la surface solide (Daughney & Fein, 1998). Le principal effet est observé, par exemple, lors d'une pluie forte qui entraîne une importante et rapide diminution de la force ionique de la solution du sol, ce qui induit l'épaississement de la couche ionique diffuse et une modification de la charge de surface du constituant solide, de la particule ou du micropolluant.

Nous avons observé ce phénomène avec des cellules bactériennes étudiées pour leur capacité à servir de vecteur pour des micropolluants métalliques (Guiné et al. 2003, 2006). Nous avons observé effectivement qu'en diminuant la force ionique de la solution des sols, la charge apparente (potentiel zêta) des cellules diminue, augmentant alors les effets de répulsion et donc d'éloignement des bactéries et des polluants (Figure 10), ce qui se traduit par une diminution de leur adsorption.

Ces phénomènes de variation de la charge des surfaces solides ou des micropolluants favorisent donc la désorption des polluants mais aussi la dispersion des microparticules (colloïdes biotiques ou abiotiques) qui peuvent transporter elles-mêmes des micropolluants (e.g. Saiers and Hornberger 1999, Guiné et al. 2003, In prep.) (Figures 59 et 60).

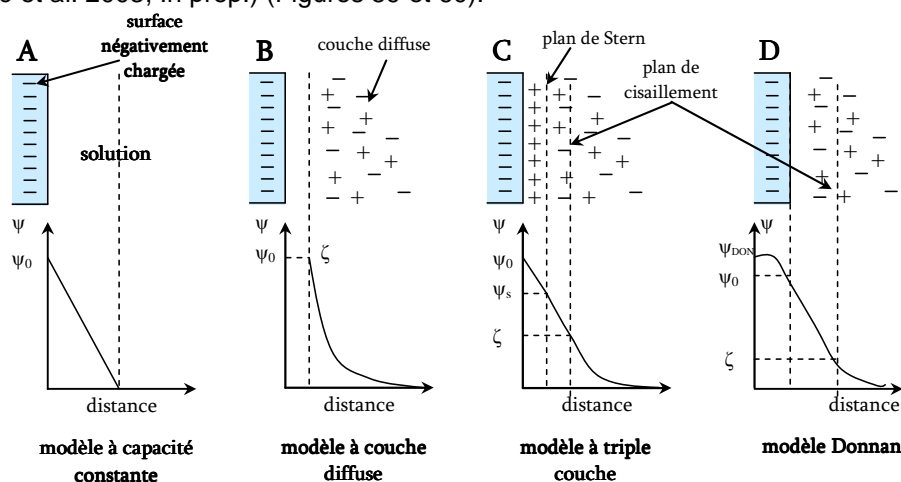


Figure 9 : Distribution des ions sur une surface chargée négativement. A: modèle à capacité constante (ψ_0 : potentiel de surface), B: modèle à couche diffuse (ζ : potentiel Zêta), C: modèle à triple couche (ψ_s : potentiel de Stern), D: modèle de Donnan (ψ_{DON} : potentiel de Donnan) (Daughney et al. 1998, Yee et al. 2004)

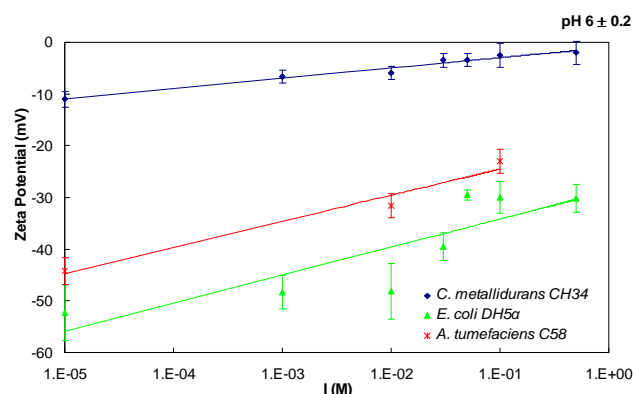


Figure 10 : Potentiel zéta de trois souches bactériennes à différentes forces ioniques (Guiné 2006)

Je me suis intéressé à ces différents effets en étudiant plusieurs composés ionisables et neutres et notamment le 2,4 Dinitrophénol (2,4DNP), le dinosèbe (Martins and Mermoud 1998), ainsi que l'isoproturon (Martins et al. In prep.), lors de mon séjour au BRGM à Orléans en 1999. Nous avons effectivement observé un effet important de la force ionique de la solution du sol sur la sorption du 2,4DNP et du dinosèbe (figure 11) dans un sol alluvial du Valais (CH) : leur taux d'adsorption est fortement augmenté en passant d'une solution de force ionique nulle à une force ionique de 0,01M (CaCl_2). Un comportement similaire a été observé avec l'isoproturon dans un sol limono-sableux lessivé du système karstique des Carrés (Loiret) (Figure 11).

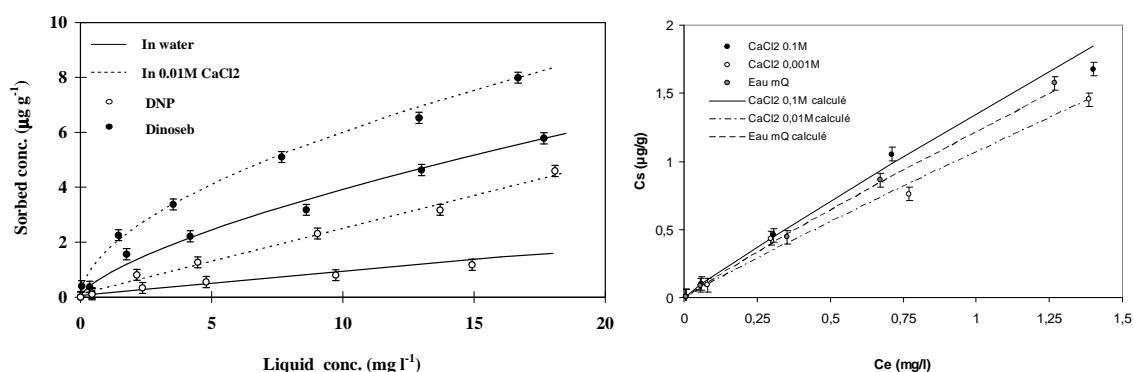


Figure 11 : *Gauche :* Isothermes d'adsorption du 2,4Dinitrophénol (DNP) et du dinosèbe en suspensions aqueuses ou de CaCl_2 0,01M. Modélisation à l'aide du modèle de Freundlich (Eq. 6) (Martins and Mermoud 1998). *Droite :* Effet de la force ionique de la solution du sol sur l'adsorption de l'isoproturon dans le sol lessivé de la zone karstique des Carrés (Loiret).

L'ambiance géochimique qui règne dans le micro-environnement des polluants dans le sol, est certainement, avec la matière organique, le facteur prépondérant pour le contrôle de leurs interactions avec les constituants des sols. Il existe ainsi une relation de proportionnalité entre la force ionique de la solution des sols les interactions polluants-particules ou particules-particules. Très souvent cette relation est une fonction à seuil, à partir duquel les barrières énergétiques de répulsion ou d'attraction (Théorie DLVO) sont franchies, accélérant alors les processus d'interaction ou de désorption. Nous avons caractérisé ce type de fonction (Eq.10) pour des particules biotiques, les cellules de *E. coli* et *C. metallidurans* CH34 (Figure 12), en prenant une relation de type Fermi proche de celle proposée par Rousseau (2003).

$$\sigma = \frac{\sigma_{\max}}{1 + e^{(-\Delta(\log(I) - \log(I_c)))}} + \sigma_{\min} \quad [10]$$

avec σ_{\max} et σ_{\min} les taux de rétention max. et min. I_c la force ionique critique (à laquelle l'attachement commence à augmenter) et Δ un paramètre de forme constant (Rousseau 2003).

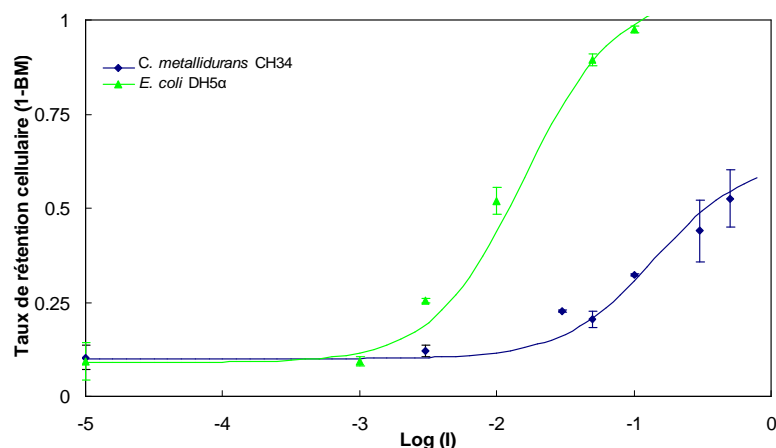


Figure 12 : Effet de la force ionique de la solution du sol sur la rétention de cellules bactériennes en milieu poreux. Les lignes continues correspondent au calcul de la fonction seuil (Eq. 10).

Nos résultats confirment donc l'importance de la connaissance de l'ambiance géochimique qui règne dans les sols pour le transport de micropolluants mais aussi de particules colloïdales (voir section 4.3.2.5.), et notamment pour le transport de cellules bactériennes. C'est ainsi un des principaux facteurs contrôlant l'adhésion et le détachement cellulaires (e.g. Marshal 1986, Martins et al. 2006).

Ce volet de recherche constitue un des objectifs principaux que je souhaite développer dans mes perspectives de recherche, notamment en relation avec les phénomènes de colonisation des milieux poreux naturels ou industriels par les microorganismes, dans des optiques de bioremédiation de sols pollués ou de traitement par biofiltration d'eaux contaminées. Ces travaux ont déjà été initiés dans le cadre de plusieurs projets et collaborations (Morra et al. 2006, Karrabi et al. 2008).

2.3.4. Rôle du pH

Beaucoup de micropolluants que l'on retrouve dans l'environnement sont ionisables, c'est-à-dire que suivant le pH, ils peuvent perdre ou gagner des électrons et des protons, et présenter alors une charge positive ou négative. De ce fait, la forme chimique ou espèce, d'un micropolluant organique ou inorganique présente dans un sol donné va dépendre pour beaucoup du pH de chaque sol. L'adsorption des micropolluants ionisables dans les sols atteint souvent un maximum pour des valeurs de pH proches du pKa de la molécule (Barriuso et al. 1992). Si le pH du sol est plus élevé que le pKa (cas des molécules acides), alors la molécule est majoritairement ionisée et l'adsorption devient plus limitée (Muller et al. 2007), les mécanismes de sorption majoritaires étant alors les liaisons électrostatiques ou de type van der Waals. Pour ces micropolluants, la relation liant la concentration aqueuse du micropolluant à la concentration dans le solide peut être très complexe et non linéaire puisque le K_D va varier avec le pH. Il faut alors tenir compte du rôle du pH sur le processus de sorption pour prédire correctement le devenir de tel ou tel micropolluant. Ainsi, pour représenter l'adsorption de ces composés ionisables, on peut par exemple faire appel au modèle développé par Lee et al. (1990) ([Eq.11]), qui tient compte des espèces organiques présentes en solution :

$$K_{oc} = K_{ocn} \Phi_n + K_{oci} (1 - \Phi_n) \quad [11]$$

où K_{ocn} est le coefficient de distribution de la forme neutre (de 0 à 1) et K_{oci} celui de la forme ionisée, Φ_n étant égal à :

$$\Phi_n = \frac{[Pol_n]}{[Pol_{tot}]} = (1 + 10^{pH + pK_A})^{-1} \quad [12]$$

$[Pol_n]$ est l'activité chimique de la forme neutre du polluant ionisable et $[Pol_{tot}]$ l'activité chimique totale. Si la forme ionisée est faiblement fixée par rapport à la forme neutre, alors $K_{ocn} \gg K_{oci}$ et on obtient :

$$K_{oc} = K_{ocn} \Phi_n \quad [13]$$

Pour les polluants inorganiques, ceci correspond au calcul de spéciation chimique, que l'on effectue avec des codes de calcul spécifiques tel que PhreeqC2 (Parkhurst and Appello, 1999), logiciel pour lequel j'ai été formé par C.A.J. Appello (formation organisée au LGIT par le Pr L. Charlet, nov. 2000).

Au cours de mes recherches, j'ai développé des travaux sur le rôle du pH dans l'adsorption des micropolluants organiques en prenant comme molécule modèle le pentachlorophénol (PCP) (Martins 1993). J'ai également étudié l'effet du pH sur la réactivité de métaux tels que le Zn ou le Cd, notamment vis-à-vis de cellules bactériennes (Guiné 2006, Guiné et al. 2006, 2007). Pour le cas du PCP, cette molécule étant ionisable ($pK_a = 4.75$), il faut considérer l'adsorption des deux espèces chimiques sur le sol, dont la formation est pH-dépendante : la forme neutre majoritaire à $pH < 4.75$ et la forme ionisée majoritaire au dessus de son pK_a .

La plupart des études sur le PCP ont montré que la forme non ionisée se fixe préférentiellement et de manière très forte sur la matière organique (Lee et al. 1990, Martins 1993) et implique des liaisons hydrophobes et des processus de partition ou des liaisons non spécifiques du type Van der Waals.

La variabilité du taux d'adsorption du PCP avec le pH (Figure 13) correspond globalement à l'effet du pH sur la solubilité hydrique (Figure 14) qui contrôle donc l'affinité du PCP pour la phase solide des sols et donc son adsorption (Figure 15) (Martins 1993).

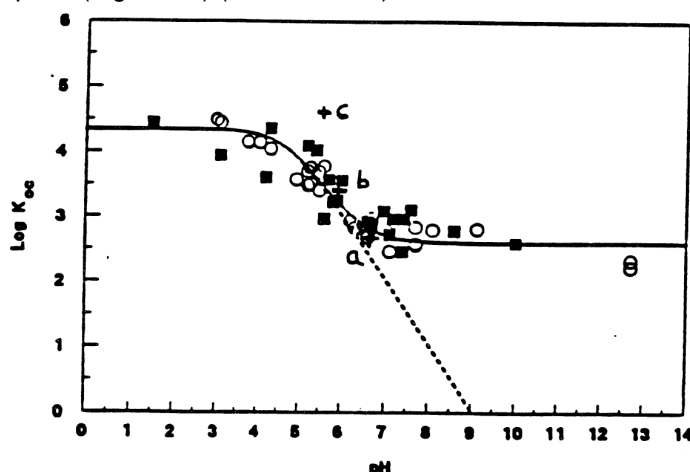


Figure 13 : Effet du pH sur la valeur de K_D du pesticide ionisable pentachlorophénol (Lee et al. 1990). Les points a, b et c, représentés correspondent aux valeurs de K_{OC} du PCP mesurées dans le sol LCSA à pH 6,67, 5,9 et 5,67, respectivement (Fig. 14).

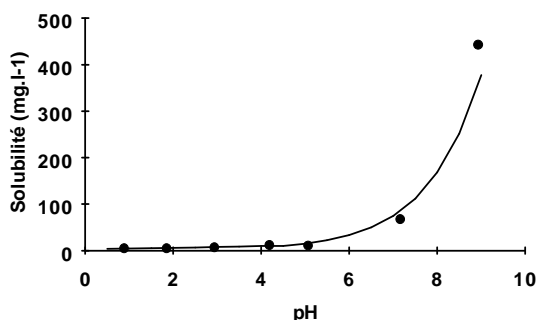


Figure 14 : Effet du pH sur l'hydrosolubilité du pentachlorophénol (Martins 1993)

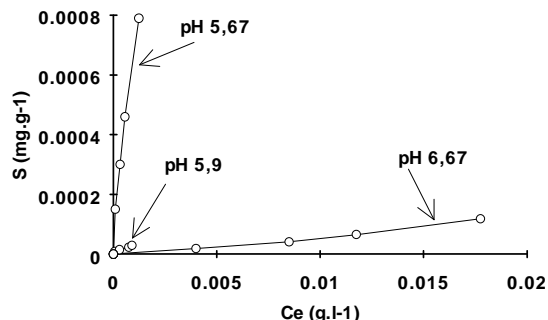


Figure 15 : Effet du pH sur les isothermes d'adsorption du pentachlorophénol dans le sol brun lessivé de La Côte St André (Martins 1993).

Ces figures illustrent bien l'effet du pH sur le comportement des micropolluants organiques dans les sols, puisque l'on peut voir que la réactivité, et donc le transfert réactif de ce polluant peut être très différent dans un sol acide (forte rétention, mobilité faible) et dans un sol neutre / alcalin (faible rétention et forte mobilité).

Compte tenu du pouvoir tampon des sols naturels, on peut s'attendre à ce que le K_D varie peu dans un sol donné. Toutefois, on peut observer à l'échelle microscopique dans les agrégats de sols des variations de pH importantes et rapides au contact de certaines surfaces (notamment organiques), impactant directement la spéciation des micropolluants à très petite échelle, avec par exemple des phénomènes de précipitation locales malgré des conditions globales pouvant favoriser plutôt la dissolution.

Pour les polluants inorganiques, la problématique est très similaire dans la mesure où le pH est le facteur clé dans le contrôle de la spéciation des éléments dans les sols. Ainsi, en utilisant le code de calcul de spéciation Phreeqc2, nous pouvons calculer les espèces en présence de chaque polluant métallique étudié. Un exemple est donné dans la figure 16 pour le zinc et le cadmium étudiés dans le cadre de leur adsorption sur les parois cellulaires de *E. coli*, *P. putida* et *C. metallidurans* CH34. Pour nos conditions de travail (pH < 6,5), les espèces majoritaires restent Cd^{2+} et Zn^{2+} .

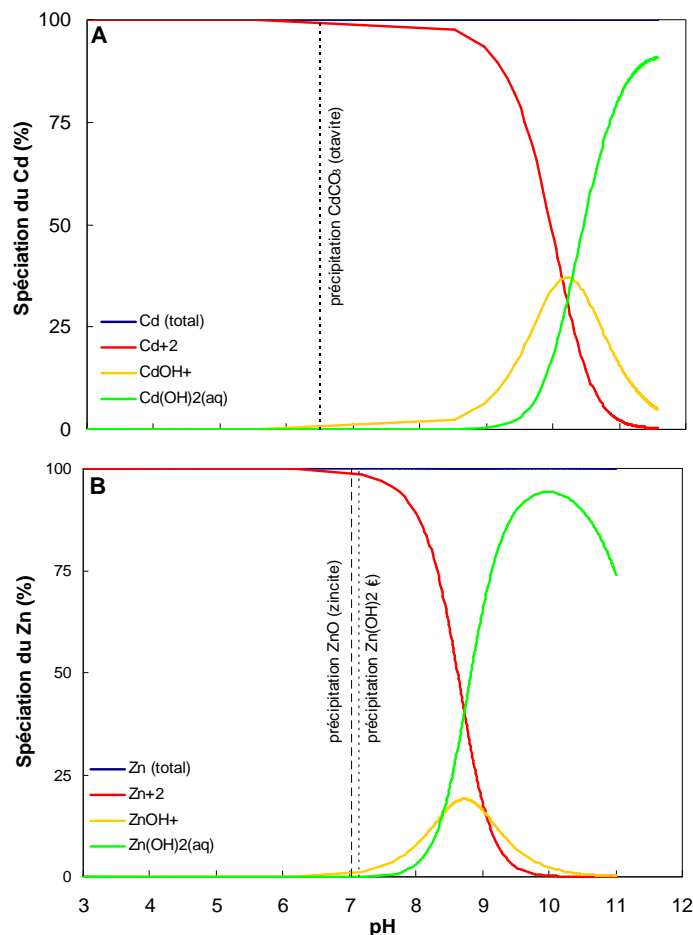


Figure 16 : Diagrammes de spéciation du cadmium ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$) et du zinc ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$) dans l'eau pure réalisés avec PHREEQC2. $[\text{Cd}] = 0,54 \text{ mM}$ (concentration maximale utilisée pour les transferts de métaux). $[\text{Zn}] = 1,7 \text{ mM}$ (concentration maximale utilisée pour les transferts de métaux)

En revanche, dans nos conditions expérimentales (colonnes de sable de Fontainebleau saturées en eau), nous n'avons pas observé d'effet du pH sur la réactivité et donc le transport réactif de cellules bactériennes (*C. metallidurans* CH34 ou *E. coli*) en milieu poreux comme le montre la figure 17, pour des pH environnementaux typiques (5,5 à 7,5). Ceci semble cohérent avec le fait que la charge de surface des cellules bactériennes varie relativement peu au delà de leur point isoélectrique qui est généralement proche de pH 3 à 4 (Guiné et al. 2006, Supporting Information).

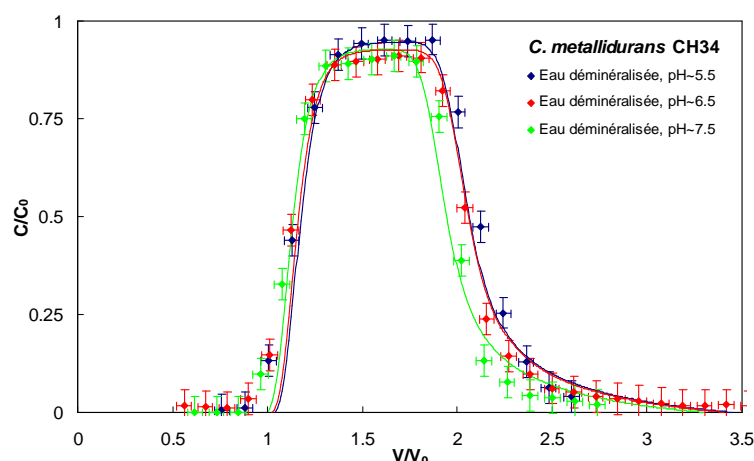


Figure 17 : Courbes d'élution de *C. metallidurans* CH34 à différents pH. Les symboles correspondent à la moyenne de trois répétitions (ou plus) et les barres d'erreur correspondent aux incertitudes sur les pesées ($\pm 0.04 V/V_0$) pour l'axe des abscisses et à l'écart type moyen des expériences pour l'axe des ordonnées.

Bien qu'encore mal intégré dans les modèles de transfert, le facteur pH est primordial dans beaucoup de situations et notamment dans les contextes d'infiltrations d'eaux pluviales (Delolme et al. 2004) ou d'épandage d'effluents à la surface des sols, ces effluents pouvant présenter des pH très acides ou au contraire très basiques suivant leur origine. Ces pratiques étant encore très courantes en France, elles ont pour effet de modifier drastiquement le comportement des micropolluants initialement présents dans le sol ou apportés par ces effluents (voir revue de Muller et al. 2007).

2.3.5. Rôle des co-contaminants (multi-contaminations).

Les situations de contaminations multiples sont très fréquentes dans les sites contaminés. En effet, il n'est pas rare de retrouver dans un même sol, une multitude de micropolluants organiques ou métalliques, voire un mélange des deux. C'est par exemple le cas lors de pollutions par des hydrocarbures, eux-mêmes constitués de plusieurs centaines de composés de poids moléculaire très variable. Dans ces sols, le comportement d'un composé individuel est forcément affecté par la présence des autres, ne serait-ce que par les effets de compétition pour les sites de sorption sur les surfaces solides, ce qui en modifie leur mobilité individuelle.

Ces processus de compétition ou de synergie sont déjà largement connus pour les métaux, ou les cations métalliques impliqués par exemple dans les mécanismes d'échange ionique et sont donc déjà relativement bien modélisés (Hawke et al. 1989, Jauzein et al. 1989, Sigg et al. 1992, Hunter et al. 1998, Ranjard et al. 2006, Abollino et al. 2008). En revanche, malgré les très nombreux cas de multi-contaminations recensés, les études concernant les micropolluants organiques sont bien plus rares et moins ciblées (e.g. Nkeddi-Kizza et al. 1985, Ragle et al. 1997, Martins and Mermoud 1998, Haws et al. 2006). Ainsi j'ai pu montrer de manière originale (Martins and Mermoud, 1998) que ces phénomènes de compétition étaient largement impliqués dans le contrôle de la biodisponibilité des polluants dans les sols et avaient donc un rôle important à la fois dans la toxicité de ces composés mais aussi dans leur mobilité, puisque leur sorption peut être largement modulée par la présence d'autres polluants en compétition pour les mêmes sites de sorption. Ces phénomènes ont été récemment synthétisés par Haws et al. (2006).

Ces travaux ont été menés à l'Hydram à l'EPFL (CH) avec une série de 4 dinitrophénols (variation d'un seul substituant) de la même famille : le 2,4-dinitrophénol (DNP), le DNOC, le dinosèbe (DNSB) et le dinoterbe (DNTB) (Figure 18). L'adsorption de ces composés dans un sol alluvial modèle a été étudiée avec des solutions mono- ou multi-composés (mélanges) afin d'établir l'effet de chacun d'eux sur l'adsorption des autres (Figure 19).

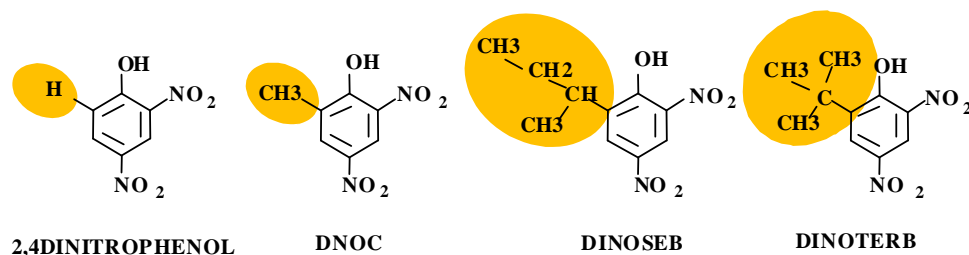


Figure 18 : Structure chimique des dinitrophénols utilisés pour l'étude des phénomènes de compétition pour les sites de sorption (Martins and Mermoud 1998)

Dans ce travail j'ai mis en évidence un contrôle fort de l'adsorption des deux composés les plus hydrophobes (DNSB et DNTB) par les deux composés les plus solubles. On voit dans la figure 19, que la présence du DNSB et DNTB ne modifie pas ou très peu l'adsorption des deux plus petites molécules, qui présentent une cinétique d'adsorption quasi-instantanée (résultats non présentés). Cette adsorption rapide leur permet d'occuper très rapidement les sites de sorption du sol alluvial étudié et ainsi réduire fortement le taux d'adsorption des autres composés. J'ai étudié plus en détail ces effets pour le cas du dinosèbe (Figure 20). J'ai montré en particulier que la diminution de l'adsorption du dinosèbe, et donc l'augmentation de sa mobilité, est due à près de 50% à la présence de la molécule la plus petite, le 2,4DNP. En plus de cet effet sur l'adsorption, j'ai montré que la compétition pour les sites de sorption entraîne également une modification de la biodisponibilité des composés les plus hydrophobes qui sont ainsi moins fortement dégradés dans ce sol. Ceci sera présenté plus en détails dans la seconde partie de ce travail (Fig. 39 et 40).

J'ai ainsi mis en évidence l'existence de processus complexes et prépondérants de compétition pour les sites de sorption dans un sol alluvial et de synergie pour la toxicité de ces 4 molécules (Figure 35), et pour leur biotransformation (Martins and Mermoud 1998). Ces effets de multi-contaminations sont largement négligés dans les études mono-contaminants, qui ne sont pourtant que rarement représentatives de la réalité du terrain.

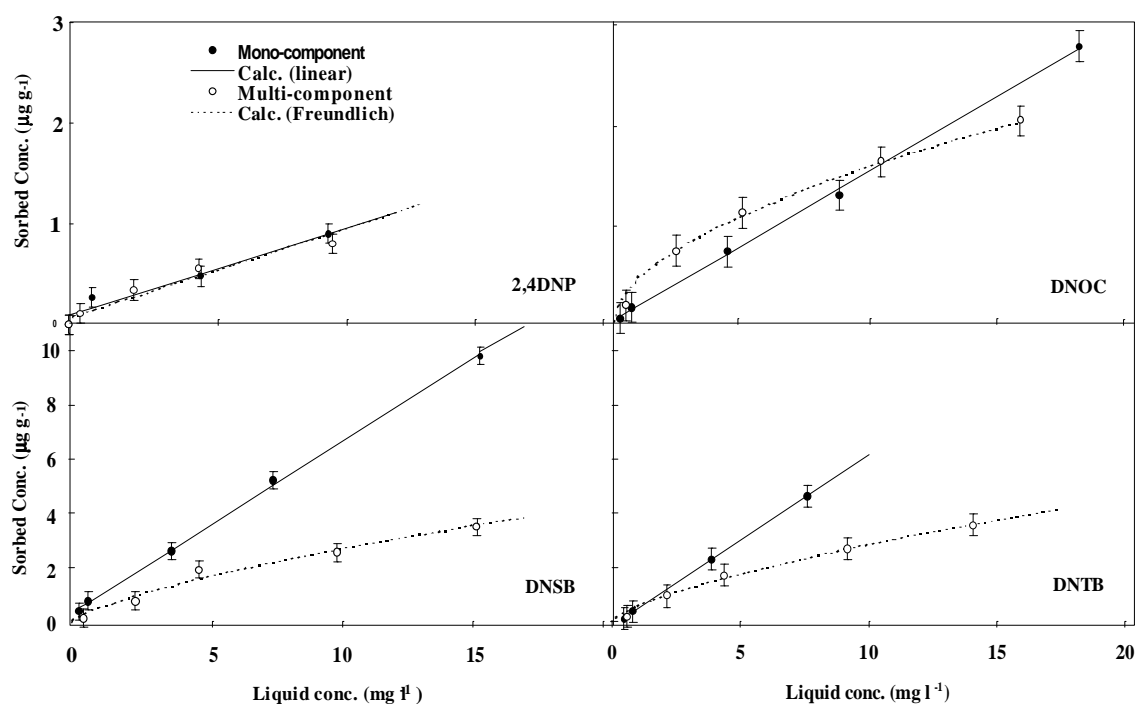


Figure 19 : Isothermes d'adsorption de quatre dinitrophénols en solutions de mono- (—) ou multi-composés (----) (mélange des 4 herbicides) dans le sol alluvial du site des Charrat (CH). (Martins and Mermoud 1998)

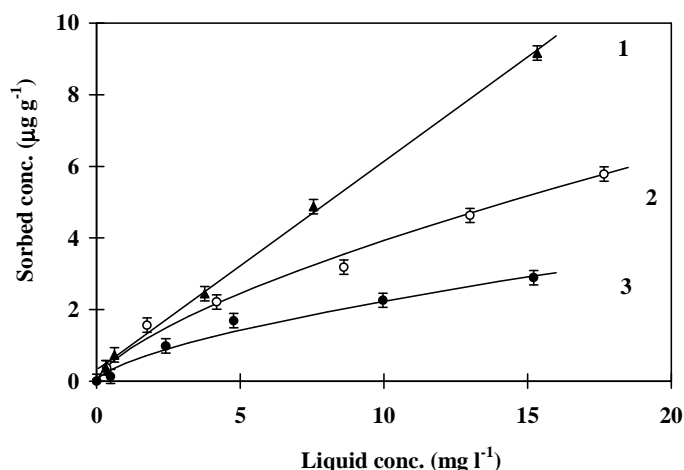


Figure 20 : Isothermes d'adsorption du dinosèbe seul (▲), en présence de 2,4 Dinitrophénol (○) ou en présence de 2,4DNP, DNOC et DNTB (●). Les isothermes sont modélisées avec l'Eq.1 (1) ou avec l'Eq. 6 (modèle de Freundlich) (2) et (3). (Martins and Mermoud 1998).

Ces résultats montrent clairement que le comportement des micropolluants peut varier lorsqu'ils arrivent seuls ou en mélange dans le milieu naturel, modifiant en particulier leurs propriétés de sorption qui devient non-linéaire et donc leur transfert réactif. Ces variations rendent leur prédiction très délicate car nécessitant la prise en compte des phénomènes de synergie / compétition précités.

Ces aspects représentent un des volets que je vais développer prioritairement dans mon projet scientifique à 4 ans, notamment dans le cadre de l'étude de multi-contaminations métalliques (Thèse BDI CNRS de Aurélien Desauay qui va débiter le 1^{er} octobre 2008).

2.3.6. Rôle des microorganismes des sols

Des études récentes ont montré que les colloïdes, notamment biologiques, pouvaient être à l'origine du transport facilité de nombreux micropolluants dans les sols (e.g. Ledin 2000, Yee and Fein, 2002, Citeau et al. 2003, Guiné et al. 2003). D'abord mis en évidence pour les radioéléments (e.g. van der Lee 1997, Crançon 2001, Haas et al. 2001, Sen and Khilar, 2006), ce processus de transfert accéléré semble être aussi important pour les autres polluants dans les sols, permettant d'expliquer en particulier l'observation de fortes « bouffées » de concentration de certains micropolluants à certaines périodes, notamment lors d'orages importants (de Jong et al. 2004).

La réactivité des micropolluants avec une des fractions les plus réactives des sols, la biomasse vivante, constituée notamment de bio-colloïdes (les bactéries), semble être particulièrement impliquée dans le processus de transfert accéléré. Les microorganismes peuvent fixer les métaux soit par adsorption passive sur la paroi, soit par bioaccumulation dans le cytoplasme. Ainsi il est reconnu (e.g. revue de Ledin, 2000) que cette rétention des métaux par les microorganismes peut soit limiter leur propagation si les bactéries sont fixées (biofilms), soit l'accroître voire l'accélérer s'il s'agit de bactéries planctoniques mobilisables sous certaines conditions hydrodynamiques (Guiné et al. 2003). Les interactions microorganismes-métaux peuvent se faire au bénéfice des microorganismes (les oligoéléments sont essentiels : K, Na, Mg, Ca, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo) ou à leur détriment (des métaux n'ont pas de fonctions biologiques essentielles connues : Al, Ag, Cd, Sn, Au, Sr, Hg, Tl, Pb). Tous ces métaux interagissent avec les cellules bactériennes et peuvent être transformés *via* des mécanismes physico-chimiques (sorption, précipitation, solubilisation, etc.) et des systèmes de transport de spécificités différentes directement ou indirectement dépendants du métabolisme cellulaire (bioaccumulation, biotransformation). Plusieurs de ces processus influencent les cycles biogéochimiques de ces éléments et leur transfert vers d'autres organismes *via* la chaîne alimentaire.

L'adsorption des métaux sur les cellules bactériennes a été principalement étudiée en chimie de solution et modélisation thermodynamique (e.g. Daughney et al. 1998, 2001, Yee and Fein, 2001, Haas 2004, Guiné et al. 2006, 2007). L'adsorption est généralement modélisée à l'aide de trois types de sites : un site acide ($pK < 4.7$) correspondant au pK moyen des groupes carboxyle et phosphodiester, un site neutre ($pK \approx 7$) correspondant aux groupes phosphomonoester, et un site basique ($pK > 8$) correspondant aux groupes hydroxyle et amine (Tableau 4). Ainsi Yee and Fein

(2001) ont proposé une courbe universelle d'adsorption du Cd sur les bactéries et proposent même de l'étendre à d'autres polluants.

Tableau 4. Principaux groupements fonctionnels associés aux différents constituants membranaires des bactéries (Cox et al. 1999).

Groupements fonctionnels	Constituants membranaires	Gram
carboxyles (R-COOH)	acides lipotéichoïques LPS, EPS	positif négatif
phosphomonoesters (R-OPO ₃ H ₂)	acides téichoïques LPS, EPS	positif négatif
phosphodiesters ((RO) ₂ -P(OH) ₂)	PG	positif (négatif)
Amines (R-NH ₃ ⁺)	phospholipides PG	négatif (positif) positif (négatif)
Hydroxyles (R-OH)	phospholipides PG	négatif (positif) positif (négatif)

J'ai initié cette thématique sur Grenoble à mon arrivée au LTHE en 1999 et l'ai renforcée dès 2001 avec le DEA de Lionel Gabelli (Gabelli 2002), puis avec la thèse de V. Guiné (Guiné 2006), et du projet Biodetox dont j'étais coordonnateur (projet financé par le programme PNSE et l'ACI Ecologie Quantitative), en collaboration avec G. Sarret et L. Spadini du LGIT/Géochimie et J. Covès du DBMS/CEA.

Au cours de ces années d'étude, et afin de rendre compte des différences de réactivité entre espèces, nous avons développé au LTHE une approche combinée de chimie de solution et de spectroscopie X (en collaboration avec L. Spadini et G. Sarret du LGIT), qui nous a permis de montrer l'importance des propriétés physico-chimiques des surfaces bactériennes (potentiel zêta, hydrophobie, groupes fonctionnels...) pour la complexation des métaux ou leur toxicité (Guiné et al. 2006, Guiné et al. 2007) (Figure 21).

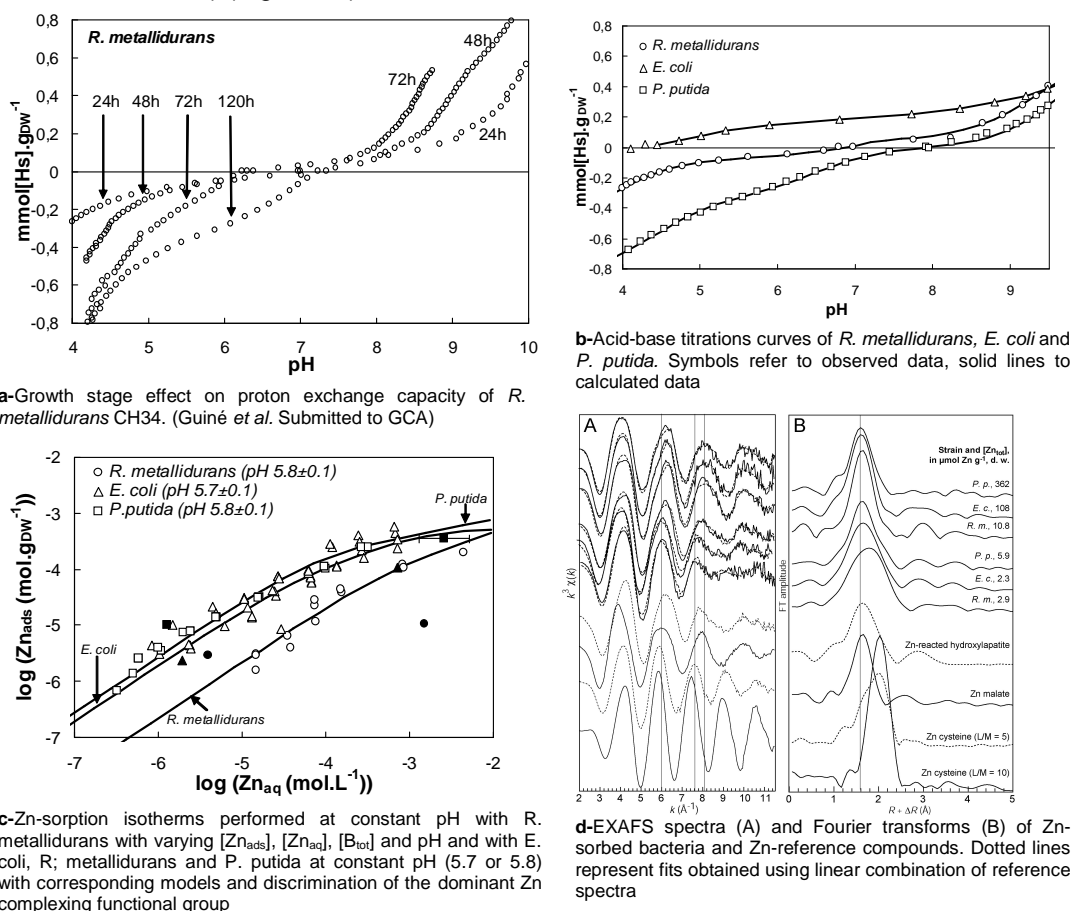


Figure 21 : Caractérisation des propriétés réactives des membranes bactériennes par titrations en solution (a, b, c) et spectroscopie EXAFS (d) (Guiné et al. 2006, Guiné et al. 2007).

Ainsi, nous avons caractérisé les propriétés acido-basiques et les sites d'adsorption du zinc de trois bactéries gram négatives (qui possèdent deux membranes plasmiques et une paroi externe relativement mince, Fig. 22) : *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, une bactérie présente dans les sols (pour cette dernière bactérie, une collaboration étroite a été initiée avec le LSE de l'ENTPE, notamment dans le cadre de la thèse de M. Muris, 2004, et aujourd'hui de B. Causse, en cours), et *Cupriavidus metallidurans* CH34 (anciennement *Ralstonia metallidurans* CH34), une bactérie isolée dans un bassin de décantation fortement contaminé par les métaux, et résistante à Zn, Cu, Ni, Co, Cd, Pb, Hg, Cr, et Se (Collaboration avec J. Covès, IBS). Son génome est séquencé, et de nombreux gènes de résistance aux métaux ont été identifiés et leur fonctionnement étudié (Mergeay et al. 2003). C'est également une souche candidate pour la bioremédiation des sols contaminés.

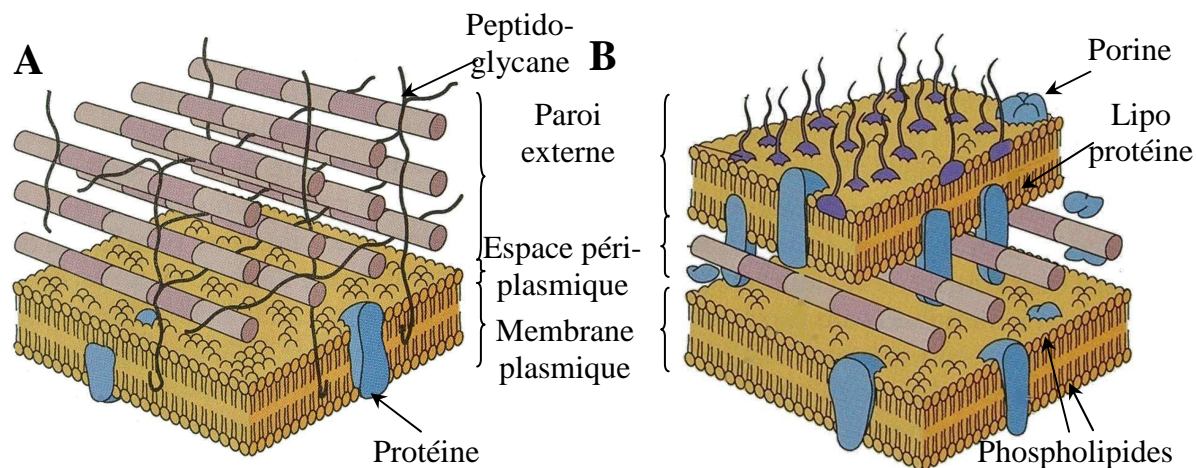


Figure 22 : Les deux types de parois cellulaires bactériennes (d'après Tortora et al. 2003).
A- Paroi d'une bactérie à Gram positif. B-Paroi d'une bactérie à Gram négatif

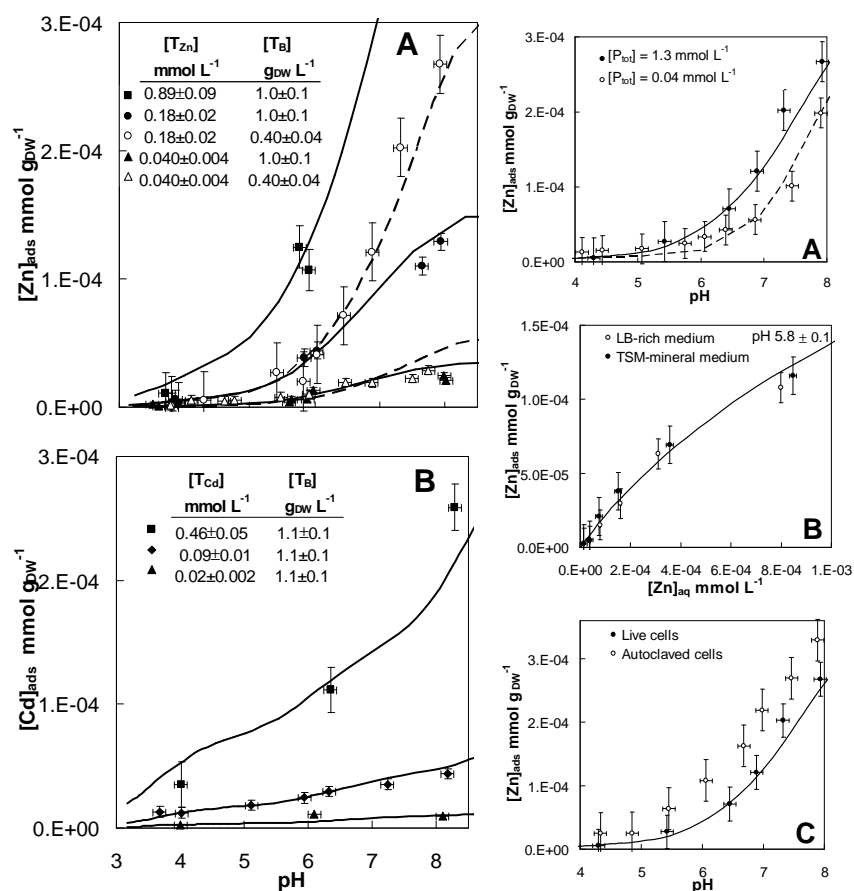


Figure 23 : Adsorption de Zn et Cd sur *C. metallidurans* et *E. coli* à pH ou concentration constants (Gauche). Effet des conditions expérimentales sur l'adsorption de zinc sur les bactéries (Droite). Guiné et al. 2007).

Nous avons montré que ces souches bactériennes présentent des propriétés de surface très contrastées leur conférant des propriétés de fixation des métaux très différentes. En effet, même si toutes les bactéries possèdent les mêmes types de groupements, leur distribution et leur densité varient fortement selon le type de culture (biofilm ou bactéries en suspension) et les conditions de milieu (Haas 2004, Guiné et al. 2007). Nos résultats (Guiné et al. 2007) ont confirmé ceux de Daughney et al. (1998, 2001) ou de Haas (2004) et ont montré que les propriétés de biosorption des bactéries varient d'une bactérie à l'autre et évoluent au cours de leur croissance et en fonction de la force ionique du milieu et des conditions de nutrition, comme le montre la figure 23.

Ces résultats ont contribué à la validation du modèle universel (Yee and Fein 2001) de réactivité de surface des bactéries aux micropolluants basé sur la prise en compte de groupements phosphoesters, carboxyles, déjà connus ou sulfhydriles que nous avons nouvellement identifiés par couplage thermodynamique et EXAFS (ESRF Grenoble et LBNL Berkeley, USA), en collaboration avec G. Sarret et L. Spadini (LGIT) (Guiné et al. 2006).

Sur la base des propriétés d'échange protoniques des membranes des trois bactéries modèles (Fig. 23) nous avons quantifié les taux de rétention maximaux de Zn sur les cellules à l'aide d'un modèle non électrostatique, ce qui nous a permis de montrer, de manière tout à fait nouvelle pour le zinc, que sa rétention ne peut s'expliquer par une simple adsorption de surface, mais que des mécanismes d'ingestion ou de rétention par des éléments externes (type EPS ou capsules) sont obligatoirement impliqués. En effet, en simulant les courbes de titration acido-basiques avec les trois types de sites décrits précédemment, nous avons observé des différences de densité de sites significatives entre les souches, par exemple du simple au quadruple pour le site neutre entre *E. coli* et *P. putida*. Cela nous a permis de classer ces sites de sorption par ordre d'affinité décroissante pour le zinc : groupements sulfhydrile (minoritaires), phosphoester et carboxyle. Cette modélisation reste toutefois peu satisfaisante pour les structures biologiques complexes telles que les biofilms, qui présentent une réactivité largement sous-estimée en raison de la mise en jeu de substances polymériques extracellulaires complexes (EPS), particulièrement abondantes dans ces structures.

D'après les capacités d'échange de protons et la taille des bactéries que nous avons mesurées (Guiné et al 2006) nous avons calculé pour le zinc une capacité totale de sorption de 16 à 56 Zn nm⁻² selon la souche étudiée. Ces valeurs de capacité d'échange excèdent largement la capacité de fixation du zinc évaluée d'après la réactivité calculée des constituants des parois d'*E. coli* (Fig. 22). Nous avons donc proposé qu'une très large part de la rétention des métaux à la surface des parois bactériennes se déroule sur les exopolysaccharides ou sur d'autres constituants externes tels que des fragments d'ADN ou des protéines (forte proportion de groupes phosphoester), qui peuvent représenter une part importante de la masse d'un biofilm bactérien.

Ces hypothèses sont en cours de validation, notamment par une étude complémentaire de localisation en MEB et en MET-HR en cours au LTHE en collaboration avec J.B. Fein de l'Environmental Molecular Science Institute (EMSI), Univ. Notre Dame (USA), Roland Hellman du LGIT Grenoble et Marc Audier du Laboratoire des Matériaux et du Génie Physique de l'INP de Grenoble. La technique la plus utilisée pour la localisation des métaux dans les structures biologiques est la microscopie électronique à balayage et en transmission couplée à de la microanalyse X. Les principales limitations à cette technique sont la limite de détection plutôt élevée (>100ppm) et le risque de redistribution des micropolluants lors du conditionnement des échantillons (fixation et déshydratation avec des réactifs chimiques). Les techniques cryogéniques permettent en théorie d'éviter ces problèmes, mais elles restent très peu utilisées pour les bactéries, bien qu'elles présentent un potentiel important pour l'avenir, notamment pour l'étude de structures plus complexes telles que les biofilms naturels. J e souhaite transposer ces techniques au LTHE prochainement, en collaboration avec R. Hellmann (LGIT) et de divers Centres de Microscopie (Lyon, Grenoble, Reims, Marseille, Edimbourg) dans le cadre de la thèse d'Aurélien Desaunay.

En parallèle, je développe une autre approche sur cette thématique qui est basée sur l'étude de la réactivité spécifique des composés majeurs (exopolysaccharides notamment) de la membrane de *C. metallidurans* CH34 et *Pseudomonas putida*, en collaboration avec L. Spadini (Causse et al. 2007), du LGIT et J. Gury, Post-doctorant au LECA. Avec Roberto Geremia (LECA), nous avons développé une approche couplée de mutagenèse dirigée de la synthèse des EPS (gène de la phosphomannomutase) de cette bactérie (Carbonero 2004), qui malheureusement s'est avérée inefficace, c'est pourquoi, nous avons poursuivi nos travaux avec un EPS modèle, le Xanthane, purifié à partir d'une souche de *Xanthomonas campestris* hyperproductrice de Xanthane, en collaboration avec A. Heyraud. Nous étudions également la modélisation de ces processus par des approches de dynamique moléculaire en collaboration Lorenzo Spadini (LGIT) et Karim Mazeau (CERMAV). Ceci constitue une des perspectives principales de mes activités pour les 4 ans à venir (section E. 5).

2.3.7. Rôle de l'hétérogénéité et de la variabilité spatiale des sols

Comme nous l'avons vu précédemment, la détermination des paramètres de sorption est généralement effectuée sur un petit nombre d'échantillons de sol ou de constituants de sol (argiles, MO, acides humiques, biomasse...), ce qui bien évidemment en limite la portée, et notamment l'extrapolation à des quantités ou surfaces de sols plus grandes.

Bien que facile à obtenir et commode d'utilisation, la représentativité d'un paramètre K_D obtenu avec 3 ou 10 g de sol, dans le meilleur des cas, peut s'avérer insuffisante pour prédire avec précision la rétention d'un micropolluant modèle dans un sol comme l'ont montré diverses études (e.g. Elabd H. 1986, Jacques et al. 1999, Diederik et al. 1999, Flury 1996, Coquet and Barriuso, 2002).

Pour améliorer la qualité des prédictions, il est nécessaire de multiplier le nombre d'échantillons pour réduire au maximum l'erreur qui entache ces mesures. Il faut toutefois connaître la loi de distribution du paramètre K_D (normale ou non) dans les sols étudiés pour avoir une bonne représentation des phénomènes de sorption et du transfert réactif associé du polluant dans ces sols.

La variabilité du coefficient de distribution à petite et à moyenne échelle, en relation avec la variabilité spatiale des propriétés physico-chimiques des sols (notamment le taux de carbone organique) a été étudiée notamment dans le cadre de la thèse de Danrong Zhang à l'Hydram à l'EPFL (CH). Cette étude a été menée avec l'atrazine et le dinosèbe (Mermoud et al. 2008) et avec l'isoproturon (Martins et al. In prep.). Pour cela, une même approche expérimentale a été développée sur deux sites différents en relation avec le projet Européen PEGASE, que j'ai co-rédigé avec C. Mouvet (BRGM Orléans, coordonnateur). Ce projet avait pour objet l'établissement de scénarios probables d'évolution de l'état de nappes phréatiques Européenne représentatives de situations pédologiques majeures. Pour cela, des échantillons et des colonnes de sols non remaniés ont été collectés sur les différents sites du projet, dont celui des Carrés, dans le Loiret, pour l'étude de l'isoproturon, et sur le site de Charrat, Valais (CH), pour l'étude de l'atrazine et du dinosèbe, selon le plan présenté dans la figure 24 (identique à celui que j'ai développé sur le site des Carrés en 1999). De part et d'autre d'une fosse de 70 cm de profondeur, des colonnes de sols ont été prélevées, ainsi que des échantillons de sols remaniés pour les études de sorption des micropolluants, tous les 5 à 7 cm et jusqu'à 80 cm de profondeur, sur trois profils verticaux.

Le paramètre K_D de chaque polluant étudié a été déterminé sur chaque échantillon de sol prélevé en triplicats et sur environ 21 profils (Zhang 2003). Les valeurs de K_D ainsi obtenues ont alors pu être analysées statistiquement pour établir notamment leur loi de distribution (Tableau 5, Figure 25).

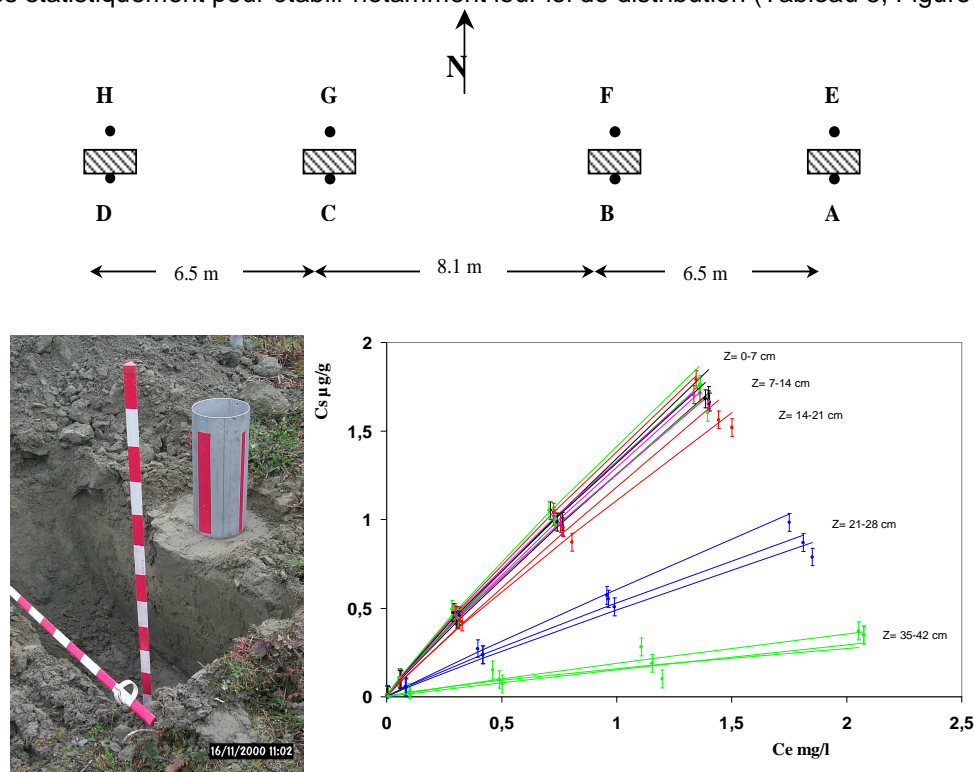


Figure 24 : *Haut* : Plan de la collecte des échantillons et lysimètres de sols. *Gauche* : Illustration de la collecte du sol alluvial limono-sableux sur le site de Charrat, Valais (CH). *Droite* : Isothermes d'adsorption de l'isoproturon dans le sol des Carré mesurées sur des échantillons prélevés à différentes profondeurs et sur 3 profils différents. Les isothermes sont modélisées avec le modèle de Freundlich ([Eq.6]). (Zhang 2003, Mermoud et al. 2008, Martins et al. In prep.).

Les résultats obtenus montrent en particulier que les isothermes de sorption de ces composés sont très fortement reliées au taux de matière organique des sols comme cela a déjà été vu dans les figures 6 et 7. Les valeurs des paramètres K_D de l'atrazine et du dinosèbe mesurés à différentes profondeurs dans le sol alluvial de Charat (CH), sont synthétisées dans le tableau 5.

L'analyse statistique de ces données a montré que dans ce sol, le K_D de l'atrazine suit une loi de distribution normale, tandis que celui du dinosèbe suit une loi log-normale (Figure 25).

Sur la base de ces résultats d'analyse statistique des isothermes d'adsorption, nous avons pu évaluer le nombre d'échantillons de sols requis pour que les mesures de K_D de ces deux polluants soient obtenues avec une erreur inférieure à 15% (au niveau 0,05). Les résultats présentés dans le Tableau 6 montrent que pour l'atrazine, le nombre d'échantillons nécessaires varie de 12 à 21, suivant la profondeur du sol à laquelle on s'intéresse, tandis que pour le dinosèbe, le nombre varie de 11 à 43 pour les mêmes profondeurs, cette différence étant principalement liée à la distribution normale ou log-normale des valeurs de K_D de ces herbicides.

Tableau 5. Coefficients de distribution sol-eau de l'atrazine et du dinosèbe ($L\ kg^{-1}$) obtenus en batch avec du sol prélevé à différentes profondeurs, sur plusieurs profils (Mermoud et al. 2008)

Depth (cm)	Site A				Site B				Site C				Site D			
	Atrazine		Dinoseb		Atrazine		Dinoseb		Atrazine		Dinoseb		Atrazine		Dinoseb	
	K_d	Mean	K_d	Mean	K_d	Mean	K_d	Mean	K_d	Mean	K_d	Mean	K_d	Mean	K_d	Mean
15	0.31		0.24		0.24		0.16		0.42		0.22		0.37		0.22	
	0.34	0.32	0.22	0.23	0.28	0.26	0.25	0.21	0.50	0.46	0.41	0.31	0.33	0.35	0.33	0.27
30	0.29		0.22		0.37		0.17		0.41		0.23		0.19		0.16	
	0.34	0.28	0.25	0.23	0.42	0.35	0.26	0.24	0.50	0.44	0.29	0.30	0.25	0.26	0.26	0.26
									0.51		0.32					
	0.21		0.22		0.26		0.30		0.34		0.34		0.34		0.35	
55	0.22		0.18		0.17		0.11		0.31		0.18		0.16		0.13	
	0.30	0.25	0.32	0.25	0.23	0.18	0.07	0.09	0.23	0.19	0.15	0.15	0.11	0.14	0.09	0.12
									0.12		0.15					
	0.23		0.25		0.14		0.08		0.11		0.13		0.13		0.14	
70	0.19		0.17		0.31		0.20		0.46		0.34		0.27		0.16	
	0.10	0.23	0.12	0.27	0.13	0.30	0.20	0.25	0.30	0.37	0.23	0.29	0.48	0.39	0.29	0.33
									0.45		0.28					
	0.40		0.51		0.47		0.36		0.26		0.32		0.42		0.55	
85	0.53		0.58		0.47		0.41		0.26		0.19		0.40		0.30	
	0.58	0.56	0.72	0.65	0.54	0.50	0.48	0.44	0.34	0.30	0.32	0.25	0.43	0.42	0.36	0.36

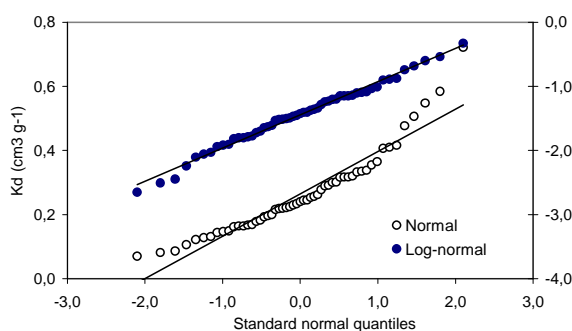


Figure 25 : Distribution statistique normale et log-normale des valeurs de K_D de l'atrazine et du dinosèbe mesurées sur des échantillons de sol alluvial limoneux-prélevés à différentes profondeurs et sur 3 profils de sols distants de 50cm (Zhang 2003)

Profondeur cm	0 – 40	40 – 65	65 – 85
Atrazine	12	21	19
Dinoseb	11	34	43

Tableau 6. Nombre d'échantillons requis pour estimer le paramètre K_D avec une erreur inférieure à 15 % (à 5% de signification) (Mermoud et al. 2008)

3. ASPECTS BIOLOGIQUES DU DEVENIR DES MICROPOLLUANTS DANS LES SOLS : BIODISPONIBILITE, TOXICITE, BIOTRANSFORMATIONS.

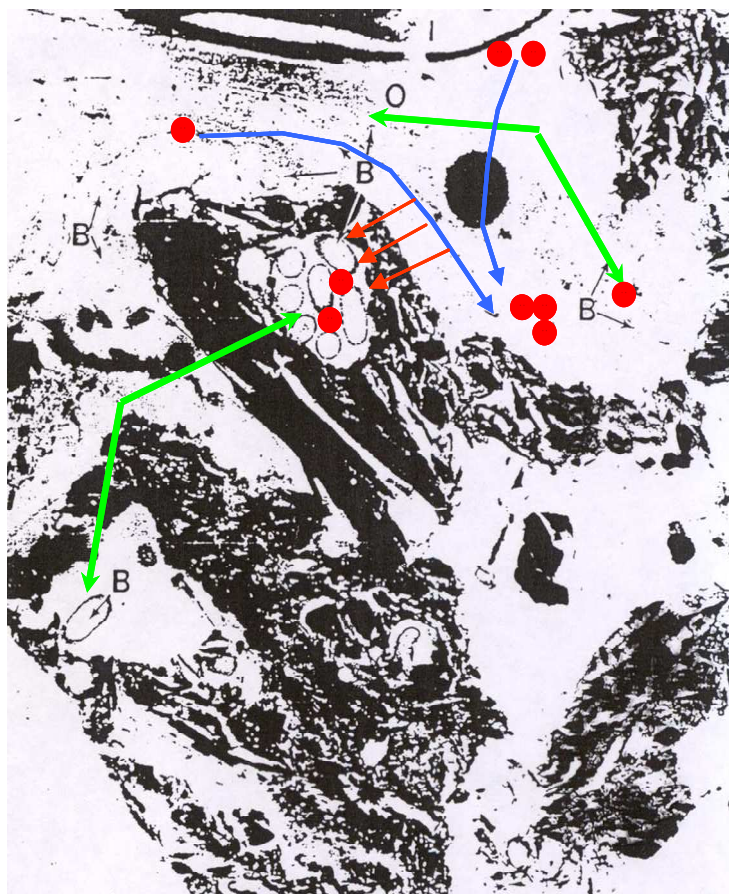


Figure 26 : Représentation de la biodisponibilité des micropolluants dans les sols. Importance de l'accessibilité (mise en contact) et de la disponibilité (entrée dans la cellule) des polluants pour les microorganismes (Martins and Nazaret 2001).

3.1. Introduction

Comme nous l'avons déjà évoqué, le sol se comporte comme un compartiment clef régulant la dynamique globale des micropolluants car le sol est tôt ou tard le réceptacle de la plupart des polluants anthropiques ou naturels. Leur comportement dans le sol va conditionner la manifestation de leur caractère polluant et l'impact sur d'autres compartiments de l'environnement. Le pouvoir épurateur des sols repose en grande partie sur l'aptitude de la composante biologique des sols à biotransformer ces polluants.

Ainsi, aujourd'hui les sols ne sont plus perçus seulement comme les milieux poreux qui servent de support aux plantes et qui laissent ou non filtrer vers la zone saturée des solutés indésirables. En effet, on admet largement qu'un sol naturel contient, à la fois comme constituants et comme acteurs de son évolution, des microorganismes (Figure 26) qui trouvent dans les sols des habitats diversifiés (débris végétaux, rhizosphère, agrégats, surfaces minérales) et, comme nous avons pu le voir pour les processus de sorption dans la section précédente, une variabilité spatiale et temporelle des conditions de milieu auxquels ils doivent s'adapter.

Les microorganismes sont ainsi des acteurs clés de tous les processus écosystémiques majeurs bien qu'ils constituent la partie la moins visible, et souvent la moins étudiée, de ces écosystèmes. Ils sont notamment impliqués dans les grands cycles biogéochimiques (cycle du carbone, cycle de l'azote). Il faut savoir par exemple que 90% des souches microbiennes connues vivent dans les sols qui constituent ainsi un réservoir très important de biodiversité et donc de potentialités pour la transformation des micropolluants.

L'évaluation de l'effet des polluants ou d'agents pathogènes dans l'environnement sur la santé humaine et les écosystèmes est enfin devenue un défi scientifique et sociétal majeur de ce 21ème siècle. La prise de conscience de la nécessité de mieux maîtriser les effets de certains rejets anthropiques sur l'environnement se traduit par la mise en place de cadres réglementaires forts.

En Europe, la mise en place du règlement REACH (Registration Evaluation and Authorisation of Chemicals) rend obligatoire l'évaluation des effets sur la santé et l'environnement des substances chimiques produites.

En France, le Plan National santé Environnement (PNSE) a posé les premières bases d'une réelle prise en compte des risques liés à l'exposition humaine à des substances chimiques ou des pathogènes. La directive Cadre sur l'Eau ou le projet de Directive Cadre sur les sols nécessitent le développement d'outils permettant de qualifier le « bon état » des eaux ou des sols. Depuis plusieurs décennies, la toxicologie environnementales (santé humaine) et l'écotoxicologie (écologie et toxicologie des organismes des écosystèmes) se sont fortement développées et proposent des outils d'évaluation pour répondre aux questions posées par les gestionnaires.

Même si les questions liées à la santé humaine et à celle des écosystèmes sont traitées et gérées par des acteurs assez différents (discipline scientifique, acteurs institutionnels), il est maintenant indispensable de répondre à ces deux types de questionnement de façon coordonnée. En effet, un écosystème dégradé par l'impact de polluants toxiques ne sera plus apte à minéraliser, stocker, détoxifier, éliminer les contaminants ou les pathogènes. Cette perte de fonctions aura donc des conséquences directes sur notre santé.

Pour limiter au maximum ces effets néfastes, il faut donc mieux comprendre le devenir et l'effet d'un toxique (ou éventuellement d'un organisme pathogène) de l'échelle moléculaire jusqu'à la biosphère. Ceci passe par le développement d'outils d'évaluation *a priori* des polluants ou rejets étudiés ou de faire des évaluations plus globales liées à certaines orientations d'aménagements. Il faut être capable de décrire aussi bien le devenir des contaminants dans les systèmes récepteurs pour mieux évaluer l'exposition à ces substances que de tester une large gamme de produits chimiques ou de mélanges sur les organismes vivants. Il sera impossible de tester de façon systématique tous les produits chimiques commercialisés. Il est donc indispensable de développer de nouvelles approches d'évaluation des substances et de développer des outils prédictifs sans tests expérimentaux systématiques (in vivo ou in vitro) en adéquation avec la complexité des milieux étudiés, notamment les sols, où la majorité des processus sont couplés.

Les activités humaines et les changements environnementaux qui en découlent, introduisant des modifications majeures dans le fonctionnement et la dynamique des écosystèmes, les conséquences restent souvent difficiles à prévoir (faute d'une connaissance suffisante de la réponse du monde

microbien à ces modifications et notamment aux changements environnementaux) et à prédire l'impact de ces réponses sur le fonctionnement et la dynamique des écosystèmes.

Une des difficultés majeures est sans doute l'identification et la prédiction des couplages qui gouvernent ces processus majeurs dans les sols, car la réponse de ces systèmes est souvent dictée par des facteurs biologiques mais aussi par des facteurs physiques ou chimiques du sol.

Les phénomènes biologiques sont particulièrement concernés par ces couplages car sous la dépendance de nombreux facteurs physiques ou chimiques (teneur en eau, pH, spéciation des polluants ou des nutriments...). Du fait de ces couplages inévitables, l'approche de ces questions scientifiques doit se faire de manière pluridisciplinaire et en trois temps :

- d'abord découpler, autant que possible, les différents phénomènes intervenant dans l'objet d'étude,
- ensuite, analyser spécifiquement les phénomènes correspondant à une loi de comportement identifiée et pertinente et chiffrer les paramètres correspondants,
- enfin, étudier les couplages entre ces phénomènes et leurs conséquences du point de vue global.

Du point de vue biologique, les défis posés par la compréhension de ces couplages, très peu pris en compte dans cette discipline, sont difficiles à aborder car nécessitant une approche pluridisciplinaire souvent plus longue et plus difficile à établir. Ils représentent toutefois un challenge passionnant, notamment dans les domaines de la formation de biofilms en milieux naturels, de la mobilité de cellules microbiennes potentiellement pathogènes dans les sols ou en encore du transport accéléré de polluants vers les nappes comme nous le verrons dans la section 4 suivante.

Du point de vue environnemental, les aspects biologiques du devenir des micropolluants dans les sols sont de première importance puisqu'ils sont à l'origine du pouvoir épurateur des sols naturels. Ainsi, bien comprendre ce phénomène permet d'envisager la réhabilitation de sites contaminés de manière efficace et à moindre coût. En tout cas beaucoup plus facilement que par les approches physiques et chimiques classiques qui, si elles sont rapides et efficaces sont toutefois beaucoup plus coûteuses et permettent rarement de préserver le site dans son état contrairement aux approches biologiques.

Dans cette partie je m'attacherais donc à présenter mes différents travaux sur le rôle du compartiment biologique des sols dans le devenir et l'impact de divers polluants étudiés. En particulier je me suis intéressé aux relations entre l'accessibilité et la disponibilité des polluants et leur impact sur les microorganismes ou au contraire l'impact des microorganismes sur les polluants en termes de biotransformation mais aussi de réactivité et de transfert accéléré dans les sols.

A chaque cas présenté une modélisation la plus simple mais aussi la plus adaptée et efficace possible (Martins 1993, Martins and Mermoud 1999, Martins et al. 2001) a été appliquée et est présentée ci-après dans la première partie de la présente section.

Je présenterais ensuite des résultats sur l'évaluation de la biodisponibilité de ces micropolluants et sur leur impact biologique dans les sols (e.g. Martins and Nazaret 2001, Martins et al. 2001). Enfin je présenterais quelques résultats sur l'identification des principaux processus contrôlant la dégradation de ces polluants dans les sols, notamment la concentration du polluant, la présence de co-contaminants (donc d'un effet toxique), ou encore la teneur en eau ou les cinétiques de transfert de matière (Martins and Mermoud 1998).

3.2. Modélisation de la biotransformation des micropolluants

Bien que certains auteurs considèrent que la sorption des micropolluants les protège des processus de biotransformation ou limite leur biodisponibilité notamment par une limitation du transfert de masse (Scow and Alexander, 1992, Smith et al., 1992; Zhao and Voice, 2000; Bengtsson and Carlsson, 2001), certaines études ont montré au contraire que la sorption permet le rapprochement et donc le contact des polluants et des microorganismes ou tout au moins que les microorganismes sont capables de produits des composés surfactants qui vont favoriser la désorption des polluants et donc leur biotransformation (Guerin and Boyd, 1992, Tang et al., 1998, Martins and Mermoud 1998, Feng et al., 2000, Alexander, 2000). Il est par exemple bien connu que dans les milieux naturels, les microorganismes sont de manière naturelle plutôt sorbés sur la phase solide des sols, ou développés en biofilms, ce qui leur permet d'économiser de l'énergie en limitant par exemple leurs déplacements

ou les sauts énergétiques nécessaires à leur métabolisme (Marshall 1986). De plus, la biotransformation des polluants suppose que ces composés soient biodisponibles pour les microorganismes, c'est-à-dire qu'ils sont accessibles aux cellules (contact direct) et disponibles pour leur entrée dans le cytoplasme cellulaire où se fait préférentiellement la biotransformation, sauf dans le cas de certaines réactions de biotransformation exogènes impliquant des exo-enzymes mais qui ne concernent généralement qu'une étape de la biotransformation.

Dans les sols se déroulent probablement les deux types de biotransformation simultanément, et en toute rigueur, il faudrait considérer à la fois un processus de biotransformation dans la phase liquide (polluant dissout) et dans la phase solide (polluant sorbé). Bien que cela soit efficace dans certaines approches de modélisation faisant appel au modèle MIM (Martins 1993, Martins and Mermoud 1999), Il est beaucoup plus simple et suffisamment précis de considérer un seul mécanisme de biotransformation global, moyenné pour les phases solide et liquide des sols. Haws et al. (2006) ont présenté une très bonne synthèse de ces aspects de modélisation de la biotransformation des polluants incluant la prise en compte de la limitation de la biodisponibilité).

Ainsi, pour représenter la disparition d'un micropolluant dans un sol, liée à sa biotransformation (dégradation pour les organiques et, par exemple, changement de phase pour les inorganiques) le cas le plus simple correspond à une consommation (ou production) où le taux de consommation de l'élément j, uniquement dû à la biotransformation, est proportionnel à sa concentration (par exemple dans la phase liquide), soit un modèle de décroissance exponentielle tel que celui de la décroissance radioactive :

$$\frac{\partial c_j}{\partial t} = -\mu_c \cdot c_j \quad [14]$$

Le signe du terme de droite est représentatif d'une consommation (<0) ou d'une production (>0). Le coefficient μ_c [T^{-1}] est supposé constant. Cette simplification est largement acceptée mais peut être mise en défaut notamment lors des processus d'adaptation génétique des bactéries à la dégradation d'un polluant dans un sol (e.g. Spain et al. 1983), le cas le plus connu étant celui du 2,4D (Fournier 1989). Les conditions d'application de l'équation [14] sont très restrictives. Elles s'appliquent notamment à une population biotique fonctionnant de manière continue et constante indépendamment de c_j . Dans des conditions moins favorables, il faut tenir compte de co-facteurs, tels que l'évolution de la population biotique, ou les inhibitions dues aux fortes concentrations.

Avec l'approche développée par Monod, on peut considérer des valeurs initiales relatives à une biotransformation par une population bactérienne, soit c_0 pour l'élément j (de concentration c_j), et B_0 pour la population bactérienne (de concentration B [nombre de bactéries par unité de masse M] en cours de transformation). Avec un rendement bactérien η , où η est le nombre de bactéries produites par unité de masse de l'élément j, la quantité de substrat X, nécessaire à la production de B est $X=B/\eta$.

La conservation de masse impose :

$$c_0 + X_0 = c_j + X$$

La croissance de population, sans limitation est telle que :

$$\frac{\partial B}{\partial t} = \mu \cdot B \quad [15]$$

Avec limitation de croissance, le coefficient μ n'est plus constant, et suit une relation du type Monod :

$$\mu = \mu_{\max} \frac{c_j}{c_j + Km} \quad [16]$$

où μ_{\max} est le taux maximal de transformation et Km est un paramètre représentant l'affinité de la population B pour le substrat j (Km = concentration du substrat à $\mu_{\max}/2$).

Les relations [14], [15] et [16] conduisent à l'équation de Monod, avec croissance de la population bactérienne B :

$$\frac{\partial c_j}{\partial t} = -\mu_{\max} \cdot \frac{c_j \cdot (c_0 + X_0 - c_j)}{c_j + K_m} \quad [17]$$

Selon les valeurs relatives de c_0 , X_0 et K_m , la relation [17] peut être simplifiée, selon les modèles d'ordre 0 ou 1, les modèles logarithmique, logistique ou de Monod sans croissance. On trouvera une discussion et une synthèse de ces modèles dans Scow et al. (1986) ou Martins (1993).

Enfin, pour des concentrations élevées de l'élément j l'activité microbienne est fréquemment inhibée. Par analogie avec les réactions enzymatiques, on peut donner l'exemple d'une transformation de Monod sans croissance ($X_0 \gg c_0$), avec une inhibition non compétitive par le substrat :

$$\frac{\partial c_j}{\partial t} = -\mu_{\max} \cdot \frac{c_j}{c_j + K_\mu} \cdot \frac{1}{1 + \left(\frac{c_j}{K_i}\right)^v} \quad [18]$$

où K_i est la constante d'inhibition par le substrat et v est l'ordre de l'inhibition.

Dans le cas de polluants organiques, si on cherche à représenter l'évolution de la concentration de plusieurs métabolites successifs issus de la dégradation de la molécule mère (herbicide par exemple), on peut utiliser la relation suivante (Martins et al. 2001), issue de la forme intégrée de l'équation 14 :

$$C_1 = \left(\frac{k}{k_1 - k}\right) \left(C - C_0 e^{-k_1 t}\right) \quad [19]$$

où C_1 et k_1 sont, respectivement, la concentration (g cm^{-3}), et la constante du taux de dégradation (h^{-1}) du premier métabolite.

Si ce premier métabolite est lui même dégradé, la production du second métabolite peut être donnée par :

$$C_2 = C_0 - C - C_1 \quad [20]$$

où C_2 est la concentration (g cm^{-3}) du métabolite 2.

3.3. Biodisponibilité des micropolluants dans les sols

Comme nous venons de le voir, divers facteurs peuvent affecter l'efficacité de la biotransformation d'un micropolluant donné dans les sols, et en particulier sa biodisponibilité, c'est-à-dire son aptitude à accéder jusqu'au microorganisme qui peut le dégrader, et de pénétrer dans la cellule. On peut dire que la concentration en polluant biodisponible est la concentration que « voient » réellement les microorganismes. De la même manière, la spéciation chimique du polluant dans le sol contrôle les espèces en présence et en particulier celles qui ont un effet toxique c'est-à-dire celles qui sont vues par les microorganismes dans les sols.

Ainsi, on comprend bien que la détermination des teneurs dites totales d'un polluant n'est pas un élément suffisant pour proposer un diagnostic de pollution dans la mesure où une partie de ces polluant peut se trouver sous une forme non accessible ou non disponible (précipitée, liée, complexée...). En effet, l'impact sur les écosystèmes naturels est lié à la mobilité, mais aussi à la biodisponibilité et à la toxicité des éléments, propriétés elles-mêmes dépendantes de la spéciation et des caractéristiques des milieux poreux.

Ceci montre clairement qu'il est indispensable d'intégrer le concept de biodisponibilité dans l'évaluation du risque environnemental de micropolluants dans les sols. Important en milieu aquatique, ce concept l'est encore plus pour les sols en raison notamment des contraintes d'accessibilité aux acteurs de la biotransformation, les microorganismes, dont la distribution n'est pas le fruit du hasard dans les sols (Monrozier et al. 1993, Grundmann 2004, Pallud et al. 2004).

Dans les sols, un des facteurs prépondérants pour la biodisponibilité des polluants va donc être la distribution des micro-organismes dans les microstructures solides. Cette distribution va largement affecter les possibilités de contact entre les polluants et les bactéries en liaison, notamment avec leur transport dans l'eau mobile ou dans l'eau immobile par diffusion (Figures 26 ou 27) comme l'ont montré et modélisé Pallud et al. (2004) en étudiant l'effet de la distribution des microorganismes sur la dégradation du 2,4D en colonnes de sol.

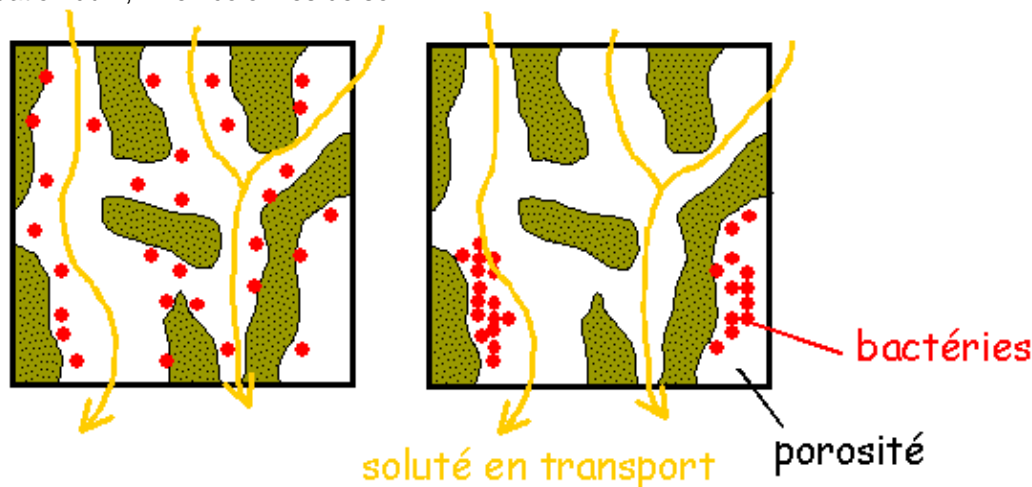


Figure 27 : Schématisation de deux types de distribution possible des bactéries dans les sols. Et de leur contact avec l'eau mobile du sol susceptible de véhiculer les polluants (Pallud 2000).

Une condition pour prévoir la dégradabilité d'un polluant donné dans un sol est donc de comprendre et prédire la distribution à la fois des microorganismes responsables de sa dégradation et celle des polluants eux mêmes (les différentes espèces) en relation avec les mécanismes de sorption, de transfert de masse vers la microporosité des sols ou sur les surfaces solides. Cette caractérisation fine demeure probablement le seul moyen de comprendre et prévoir les contacts polluants-microorganismes dans les différentes fractions des sols.

La connaissance et la modélisation, de la structuration des sols en micro-agrégats ou microstructures complexes dans lesquelles les polluants doivent diffuser pour atteindre les microorganismes et être biotransformés ou au contraire induire un effet létal, est une étape indispensable pour une modélisation correcte et transposable. Les temps de résidence des polluants dans ces différents compartiments, notamment dans la micro-porosité ou dans le réseau de matière organique (résidus liés) sont difficiles à caractériser en raison principalement de problèmes métrologiques d'extraction et de limite de détection qui rendent l'approche géochimique classique insuffisante. C'est pourquoi j'ai développé au LTHE des travaux faisant appel à des outils novateurs de biologie moléculaire dont la sensibilité est nettement plus grande car s'effectuant au niveau de la molécule, comme par exemple la technique des biocapteurs bactériens.

L'application de ces outils à l'étude des différents temps caractéristiques du transfert d'un polluant (convectif, diffusif, géochimique et biologique) doit apporter des informations novatrices à la fois sur la biodisponibilité des polluants mais aussi sur les chemins de l'eau dans les sols et sur la mise en contact des solutés avec les surfaces solides et/ou les micro-organismes responsables de réactions biogéochimiques (e.g. Martins and Nazaret 2001, Broussillon 2003, Mimouni 2004, Gandelli 2005, Lejon et al. 2007, 2008), dont l'essor s'amplifie actuellement, signe de leur intérêt pour ce type d'approche, et notamment pour leur application dans les sols (e.g. Yolcubal et al. 2008). D'autres techniques sont aujourd'hui disponibles pour évaluer la biodisponibilité des polluants dans les sols, mais qui semblent plus limitées, et notamment plus sensibles aux phénomènes de compétition inter-polluants ou aux effets hydrodynamiques, tels que la DGT (Diffusion Gradient in Thin films), ou d'autres espèces biologiques indicatrices telles que les Bryophytes, ou les champignons. Elles restent toutefois très utiles et apportent des informations complémentaires.

Ainsi je me suis intéressé dans un premier temps au cas du mercure, dont la forme Hg^{2+} provoque chez les microorganismes des réactions de détoxification (essentiellement la réduction en Hg^0 très sensibles et rapides qui peuvent être utilisées comme traçage du passage, du contact et de la biodisponibilité du métal, grâce à l'emploi notamment de fusions de gènes. C'est cette approche

(basée sur l'utilisation de biocapteurs : systèmes biologiques dont la réponse à la présence d'un polluant est suivie et détectée par un système biochimique rapporteur) que j'ai privilégiée, aussi bien pour le mercure (fusions de gènes *mer::lux*, Fig. 30) que pour le cuivre ou le chrome. Cet outil peut être développé d'une manière générale pour tous les micropolluants qui provoquent une réponse génétique au niveau des cellules bactériennes, constituant ainsi potentiellement un système biologique indicateur de la biodisponibilité d'un polluant.

Dans le cadre de mes perspectives de recherche, j'envisage de développer de manière importante ce volet biocapteur au LTHE, en appui à divers projets de recherche en cours ou soumis pour financement. Ainsi, ce volet constitue un des principaux outils à mettre en œuvre dans le cadre de la thèse d'Aurélien Desauay (BDI CNRS, 1/10/2008) sur la réactivité et l'impact de multi-contaminations métalliques sur les microorganismes des sols.

Cas du cuivre

Dans le cadre d'un projet de recherche sur le devenir et l'impact du cuivre dans un sol de vigne (projet Cuivre financé par l'action Ecodyn du programme ECCO, coordonné par L. Ranjard, INRA Dijon), j'ai été amené à évaluer la biodisponibilité du cuivre échangeable d'un sol amendé avec divers types de matière organique (Martins et al. 2005, Lejon et al. 2007, 2008). Dans un premier temps, j'ai essayé de caractériser la biodisponibilité et l'impact du cuivre en conditions dynamiques lors d'essais de lessivage des sols en colonnes. L'objectif était de suivre la distribution des réactions des micro-organismes dans des dispositifs de laboratoire en microcosmes de sol simples et en colonnes. L'hypothèse de base étant que la concentration en métal impactant réellement les organismes est, non pas la concentration totale dissoute mais bien, la concentration que voient les cellules, c'est-à-dire la concentration dite biodisponible, reflétant au mieux l'accessibilité au polluant et son incorporation dans la cellule bactérienne.

J'ai pu montrer dans ces résultats que l'apport en matière organique dans un sol (Figure 28), entraîne d'une manière générale, une diminution des concentrations en cuivre échangeable au calcium dans le sol et plus particulièrement de la biodisponibilité du cuivre, alors que les concentrations en Cu total et Cu complexable à l'EDTA mesurées sont relativement stables d'un sol à l'autre.

Ceci confirme d'abord que la simple mesure des concentrations globales d'un polluant donné, ne renseigne absolument pas sur la toxicité potentielle de la contamination.

D'autre part, l'application d'une souche de *Pseudomonas fluorescens*, biocapteur bactérien indicateur de cuivre biodisponible (aimablement fourni par O. Nybroe, 2001) a permis de montrer que les concentrations en cuivre biodisponible, i.e. réellement vues par les microorganismes dans les sols et donc potentiellement toxiques, ne représentent que 0.01 à 0.1% de la teneur totale en cuivre du sol.

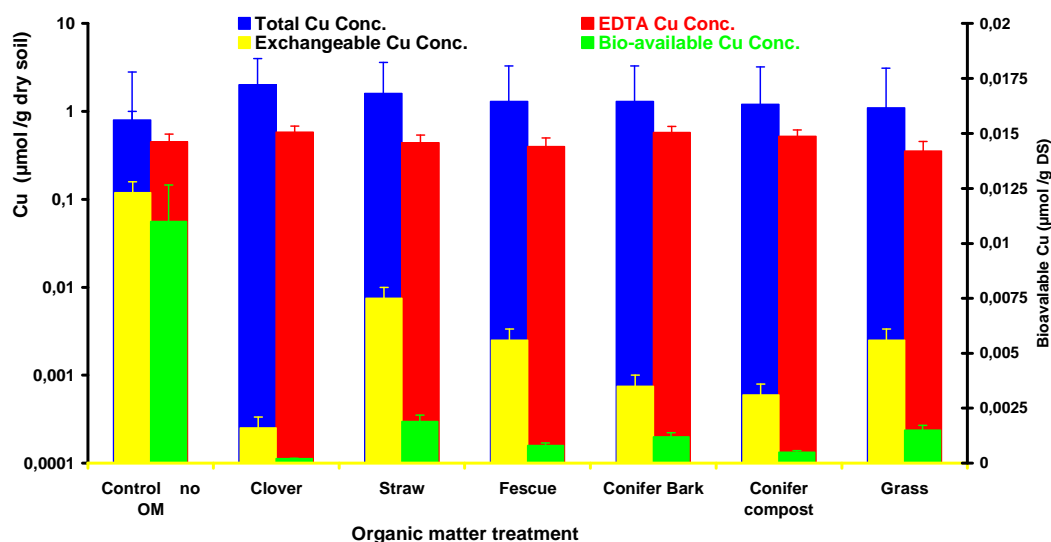


Figure 28 : Effet de divers amendements organiques dans un sol de vigne limono-argileux sur la spéciation du cuivre et sur sa biodisponibilité. (Martins et al. 2005)

Ces résultats démontrent également l'effet protecteur de la matière organique pour les microorganismes de ces sols en relation avec la toxicité du cuivre (Lejon et al. 2007, 2008), puisque les concentrations les plus fortes en Cu échangeable et biodisponible sont observées dans le sol témoin non amendé, seul sol pour lequel nous avons observé un impact sur la microflore microbienne.

Dans le cadre d'une étude complémentaire en microcosmes de sols (Figure 29), j'ai évalué l'évolution temporelle de ces concentrations en Cu biodisponible après une contamination à environ $100 \mu\text{g g}^{-1}$. Ceci a été fait plus spécifiquement sur le sol témoin et sur les sols amendés avec de la paille ou du compost de résineux, les plus discriminés en termes de biomasse microbienne et d'activité biologique (Lejon et al. 2007, 2008). Dans cette étude, j'ai couplé des mesures de cuivre biodisponible (biocapteur) avec des mesures de cuivre libre, Cu^{2+} (Électrode sélective) et de cuivre total (ICP-AES).

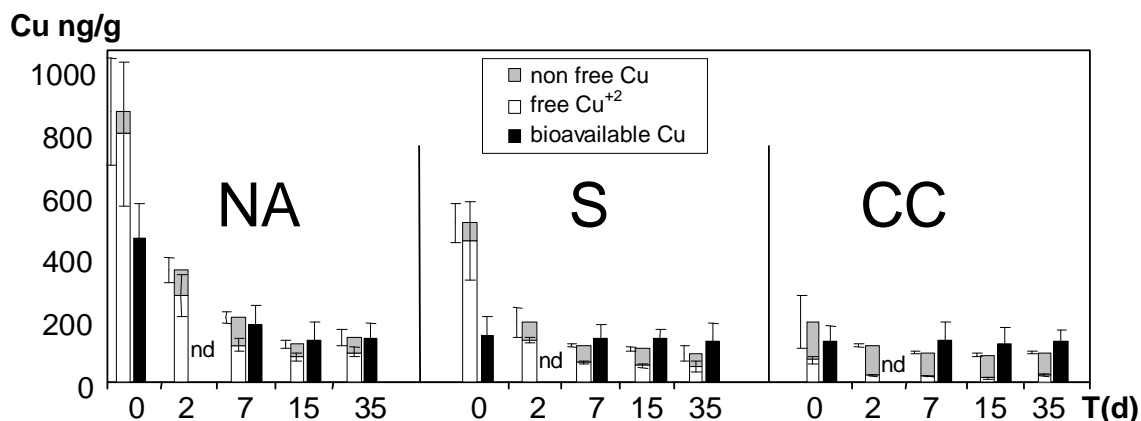


Figure 29 : Evolution temporelle des concentrations en cuivre libre, complexé et biodisponible en sol de vigne témoin (NA), amendé en paille (S) et en compost de résineux (CC) (Lejon et al. 2008)

Les résultats observés montrent que le cuivre biodisponible est majoritairement du cuivre libre (Cu^{2+}), mais pas seulement. En effet, dans les sols amendés en MO, une fraction importante du cuivre complexé avec la matière organique dissoute (MOD) apparaît également comme biodisponible pour les bactéries, ce qui constitue un résultat tout à fait nouveau (Lejon et al. 2008). D'autre part ces résultats montrent que les concentrations en cuivre échangeable (libre, biodisponible ou total) diminuent très rapidement avec le temps, et que ces concentrations se stabilisent dès 7 jours après la contamination au Cu, indiquant qu'un effet toxique, s'il est probable dans les jours qui suivent son application, disparaissent rapidement en relation avec la réactivité du cuivre avec les sols (et en particulier avec la matière organique (Lejon et al. 2007, 2008). Le vieillissement d'une contamination au cuivre dans les sols viticoles après son application au champ est fortement dépendant de la présence de matières organiques, qui constituent un moyen efficace et rapide pour limiter la mobilité du cuivre dans le sol en complexant une très grande partie du cuivre échangeable. Toutefois, mes résultats les plus récents ont montré que la forme du cuivre complexée à la matière organique dissoute était la plus mobile. Ainsi, le fait d'amender le sol viticole en compost de résineux a eu pour effet de protéger les microorganismes d'un effet de toxicité mais a aussi induit une augmentation d'un facteur 3 de la mobilité du cuivre sous forme complexée et associée à la MOD ou aux colloïdes mobilisés en colonnes de sols (Alonso 2005, Barnier 2006, Navel 2008).

Ces résultats, obtenus à l'aide d'outils spécifiques (biocapteur et électrode sélective), nous ont donc permis de relier la spéciation du cuivre à son impact sur la microflore caractérisée indirectement par l'évolution temporelle de la biodiversité bactérienne et fongique (Fig. 33) au cours du vieillissement d'une contamination au cuivre en microcosmes (Lejon et al. 2008).

Cas du mercure

Le cas du mercure a été étudié dans le cadre du programme Mercure en Guyane du CNRS. Dans ce projet, je me suis intéressé à la biodisponibilité du mercure dans le sol de Dorlin (Guyane) à l'aide d'un biocapteur bactérien indicateur de mercure biodisponible, biocapteur aimablement fourni par T. Barkay (Selifonova et al. 1993). Ce biocapteur contient une construction génétique (Figure 30) obtenue par fusion des gènes de régulation de la résistance des bactéries au mercure (gènes *merR* de l'opéron *mer*) avec un système rapporteur, l'opéron *lux*.

Cette construction était disponible dans une souche de *E. coli* pRB28. Cette bactérie étant connue pour ne pas survivre, ou très mal, dans les sols naturels, j'ai transféré la construction génétique dans une bactérie du sol disponible au laboratoire d'Ecologie Microbienne (UMR 5557) lors d'un séjour de 6 mois en 2000 : *Agrobacterium tumefaciens*. J'ai ainsi pu évaluer la capacité de survie de cette bactérie contenant la construction génétique dans le sol modèle LCSA stérile, contaminé ou non en Hg (Figure 31). Les résultats observés montrent que cette bactérie est capable de survivre dans le sol

non contaminé préférentiellement dans le compartiment dit externe du sol (autour des grains et dans la macroporosité), et qu'au bout de quelques jours cette bactérie parvient à coloniser le compartiment dit interne (intra-agrégats) qui contient alors environ 10% de ces bactéries bioindicatrices.

Dans le sol stérile contaminé au Hg, on observe dans un premier temps un effet de toxicité important du mercure qui se traduit par une chute du niveau de population du biocapteur.

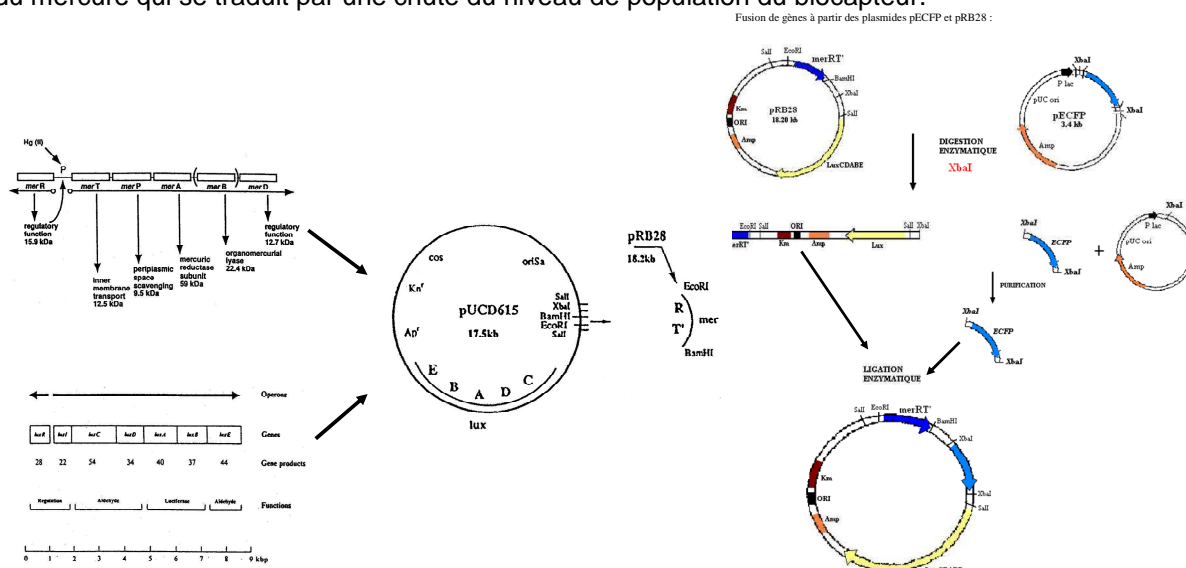


Figure 30 : Construction génétique indicatrice de la biodisponibilité du mercure par la technique des fusions de gènes avec le système rapporteur *lux* (Gauche) (Martins and Nazaret 2001) et avec le double système rapporteur *mer-cfp-lux* (Droite) (Broussillon 2003).

Cette chute est suivie d'une recolonisation des deux fractions du sol de manière décalée comme dans le sol non contaminé. Ces résultats indiquent que comme pour le cuivre, la biodisponibilité du mercure, importante dans les premiers jours et induisant une toxicité forte, diminue rapidement pour devenir négligeable après seulement 2 à 3 jours, permettant alors la colonisation du milieu poreux par les bactéries.

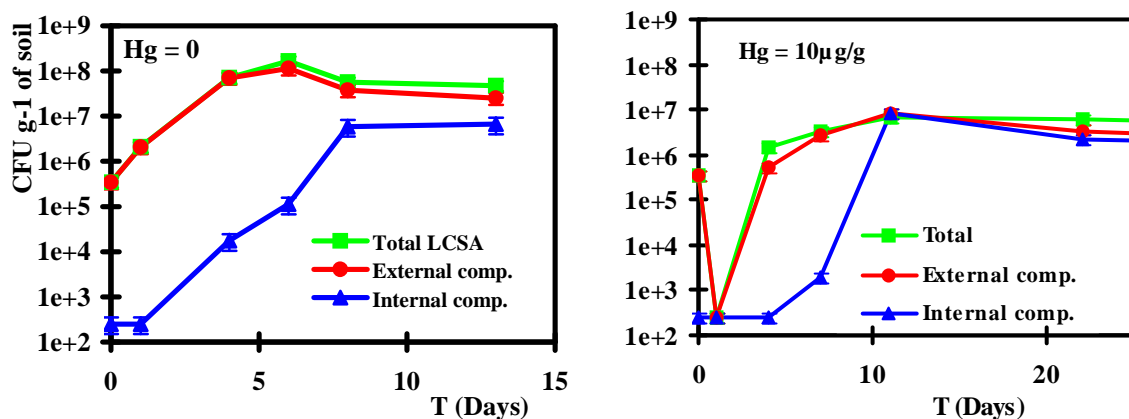


Figure 31 : Survie du biocapteur indicateur de Hg biodisponible dans le sol modèle LCSA contaminé ou non en Hg à 10 µg g⁻¹. Les compartiments interne et externe ont été obtenus par la technique des lavages de Hattori décrite dans Martins and Nazaret 2001).

Le comportement de ce biocapteur bactérien (*A. tumefaciens*) dans le sol de Dorlin s'est avéré très différent (Figure 32). Cette bactérie, bien qu'étant une bactérie édaphique, est incapable de survivre dans le sol de Dorlin, pour des raisons qui n'ont pas été identifiées (toxicité, prédation, compétition...) car pouvant être multiples.

Ce résultat est important en terme de bioremédiation des sols car il confirme que l'on ne peut pas utiliser n'importe quelle souche bactérienne dans une optique de bioremédiation de sols pollués, il faut d'abord s'assurer de sa capacité de survie dans le sol étudié.

La construction génétique indicatrice de Hg biodisponible a donc été transférée dans une bactérie isolée du sol de Dorlin (non encore identifiée) et appelée Guy1, qui a ainsi servi de nouveau bio-indicateur de mercure. Sa dynamique de population dans le sol de Dorlin est présentée dans la Figure 32, et montre une capacité biotique du sol très élevée (3.10^8 CFU g^{-1}), confirmant cette bactérie comme un bon candidat pour l'évaluation de la biodisponibilité du mercure dans ce sol.

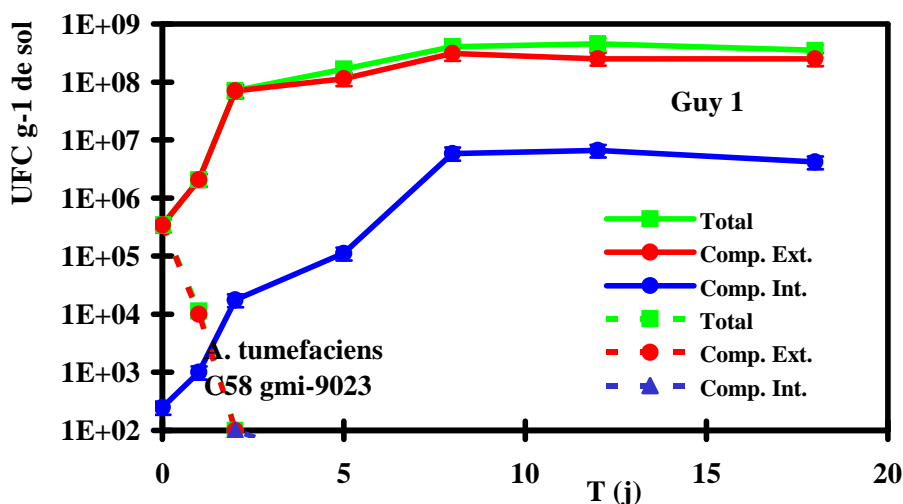


Figure 32 : Survie des biocapteurs bactériens *A. tumefaciens* C58 gmi-9023-pRB28 et Guy1 (souche isolée du sol de Dorlin ayant reçu le plasmide pRB28) indicateurs de Hg biodisponible dans le sol de Dorlin. Les compartiments interne et externe ont été obtenus par la technique des lavages de Hattori (In Martins and Nazaret 2001).

J'ai étudié d'autres aspects de la biodisponibilité des polluants, notamment organiques (dinitrophenols) dans les sols, en relation avec leur biodégradation. Les résultats correspondants, qui concernent l'effet de co-contaminants sur la biodégradation et l'impact des herbicides dinitrophenols, sont présentés dans la section 3.4 suivante.

3.4. Toxicité et impact des micropolluants

Les aspects biologiques des risques liés à l'introduction de polluants dans les sols (substances exogènes) mettent en évidence l'importance des facteurs abiotiques caractéristiques du milieu édaphique tant dans l'accessibilité des molécules introduites, leur chance de rencontre avec des microorganismes nombreux ou actifs, que dans l'effet que la substance introduite aura sur le nombre de microorganismes, leurs activités et la structure des populations telluriques. La mise en évidence de la réaction des populations telluriques au contact du polluant s'établit principalement par des techniques de culture classique (avec l'inconvénient de l'accès à seulement 10% au mieux des microorganismes totaux) ou de biologie moléculaire permettant la caractérisation de la communauté microbienne dans son ensemble (au rendement de l'extraction d'ADN ou d'ARN près).

Comprendre les risques et l'impact de l'introduction de polluants dans l'environnement édaphique nécessite donc la connaissance des paramètres qui règlent les différents aspects de la vie microbienne dans les sols. D'abord, il faut connaître les caractéristiques biologiques des sols que nous devons prendre en compte, comme l'ont bien montré Lamotte et Monrozier (1998) dans le cadre du GDR Exosols auquel j'étais associé en tant que sous-traitant lors de mon séjour à l'EPFL (Suisse). Ainsi, les risques résultant de l'introduction de polluants dans les différents environnements que les microorganismes rencontrent dans le sol, sont :

1. L'effet de transformation que les organismes microbiens pourront exercer sur la substance introduite, c'est-à-dire la capacité qu'un certain nombre d'entre eux ont, ou acquièrent d'utiliser la molécule comme source de carbone (éventuellement d'azote et de phosphore) ou d'énergie ou comme accepteur d'électron. La transformation peut porter sur tout ou partie de la molécule ou de l'élément, sur une liaison caractéristique, ou par une succession de réactions enzymatiques (souvent assurées par des microorganismes différents) et atteindre la dégradation ultime en CO_2 , H_2O ...

2. L'effet que la (ou les) substance(s) exogène(s) aura sur les organismes vivant dans le sol, sur leur nombre, la diversité des populations et leurs activités. En particulier l'apparition de gènes de dégradation de liaisons réputées xénobiotiques, ou simplement difficiles à rompre : liaison carbone-halogène, composés non polaires...

Pour évaluer ces risques, il faut bien entendu, comme je l'ai déjà évoqué ci-dessus, bien comprendre le fonctionnement biologique des sols pour pouvoir détecter ou quantifier les impacts qui peuvent être de différentes natures, et en particulier qualitatifs (structure des communautés microbiennes) et quantitatifs (dynamique des populations). Comme présenté ci-dessus, les microorganismes vivant dans les sols ne sont pas répartis au hasard ni de façon homogène (Fig. 26). Leur répartition, et par conséquent leurs relations avec un polluant exogène, répond à des contraintes spécifiques de chaque type de sols.

Les microorganismes dans le sol sont soumis d'abord à des contraintes de disponibilité des nutriments (substrats, ou polluants, comme cela a été vu dans la section précédente) :

- des substrats "respiratoires", c'est-à-dire d'accepteurs d'électrons, oxygène, nitrate, molécules organiques ou métaux à potentiel redox variable. Par exemple, l'halogène d'une liaison organo-halogénée (e.g. Cl dans le pentachlorophénol) constitue un accepteur d'électrons tout à fait compétitif par rapport au nitrate.

- des substrats sources d'éléments de synthèse de biomolécules : C, N et P, ce qui, pour la plupart des microorganismes signifie qu'ils ont accès à des molécules organiques.

Depuis Dommergues et Mangenot (1970), il est connu que la distribution des microorganismes varie avec la profondeur du sol et avec la nature des horizons pédologiques. La densité, mais aussi la diversité des microorganismes sont influencées par la matière organique du sol ou par la présence d'une plante et par l'organisation des constituants du sol. On définit ainsi deux maximum de densité microbienne : les parties mortes des végétaux (litières) et l'environnement immédiat des racines (rhizosphère). Les débris végétaux sont colonisés par des organismes pourvus d'exoenzymes capables de s'attaquer à des ensembles moléculaires de grande taille (cellulases, ligninases), alors que l'environnement racinaire comporte des microorganismes capables d'utiliser les exsudats ou de s'adapter à une forte concentration en CO₂ (Martins 1993, Lamotte and Monrozier 1998).

Les microorganismes peuvent biotransformer les polluants soit directement, soit par l'intermédiaire d'un co-substrat.

Dans la plupart des sols les composés organiques résidants vont avoir un rôle clé dans la localisation des microorganismes, dans la fourniture de co-substrats ou dans la limitation des biotransformations de la molécule, soit par réaction (par exemple avec les composés humiques et la formation de résidus liés évoqués dans la section 2) soit parce qu'ils offrent des substrats plus intéressants que le polluant pour les microorganismes.

Les proportions des différentes populations microbiennes varient selon les conditions de milieu et la compétition qui s'exerce entre elles aussi pour l'utilisation des substrats et l'occupation des niches. Les microorganismes du sol subissent des contraintes biologiques que la présence d'un polluant peut modifier. Par exemple l'introduction de PCB dans un sol a un effet létal sur les protozoaires, principaux prédateurs des bactéries du sol; la destruction des prédateurs permet aux bactéries de proliférer sans utiliser les molécules de PCB simplement parce qu'elles ne sont plus contrôlées par les prédateurs (Steinberg et al. 1990). De même la présence de racines peut avoir selon l'espèce végétale considérée, un effet attracteur et peut stimuler spécifiquement certaines populations par rapport à d'autres et entraîner un comportement différent par rapport à la substance introduite.

Par ailleurs, les microorganismes subissent des contraintes d'ordre physique : comme nous l'avons vu dans la section 2, le premier contact entre un polluant et le sol se produit à la surface de ses constituants (sorption) qui vont réguler la disponibilité de ces polluants pour les microorganismes. D'autres facteurs physiques typiques des sols jouent également un rôle déterminant dans les différents aspects de la vie microbienne dans les sols :

- teneur en eau : les bactéries peuvent encore être actives à des potentiels hydriques de l'ordre de - 40 bars et se mouvoir jusqu'à -5 bars,
- réactivité des surfaces minérales : les bactéries peuvent tirer une partie de leur énergie de la différence de concentration en cations entre le milieu externe et le milieu intracellulaire.

- organisation de la matrice solide : les constituants colloïdaux des sols peuvent s'organiser en agrégats incluant des particules plus grossières. Selon que les microorganismes seront internes ou externes à ces structures, leur accessibilité aux polluants véhiculés par l'eau sera différente.

APPLICATIONS :

Les effets toxiques des polluants concernent en grande majorité des polluants inorganiques (métaux lourds), même si certains xénobiotiques organiques peuvent s'avérer ponctuellement très toxiques, comme certains HAP ou les molécules organo-halogénées, quelques fois indirectement (Steinberg et al. 1990). Ainsi, pour l'étude de la toxicité des micropolluants, je me suis intéressé principalement à des métaux lourds modèles (Hg, Cu, Cd...) et pour les micropolluants organiques, j'ai étudié l'impact du pentachlorophénol et de 4 dinitrophénols en mélange. Je présente ici quelques résultats représentatifs de mes travaux sur ces aspects de toxicité.

Cas des métaux lourds

Les besoins énergétiques des microorganismes requièrent des concentrations très basses de métaux lourds essentiels (entre 1 ng L^{-1} et $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$). Ils sont directement et/ou indirectement impliqués dans les différents aspects de la vie des microorganismes (croissance, métabolisme). Les métaux non essentiels peuvent être extrêmement toxiques à des concentrations encore plus faibles. La toxicité des métaux peut également résulter d'une concentration anormalement élevée d'un métal biologiquement essentiel comme par exemple le zinc ou d'un effet de synergie, suite à la présence d'autres métaux.

La pollution du sol par les métaux entraîne généralement une diminution de la biomasse et de la diversité des espèces (dont celle des populations bactériennes) avec des conséquences écologiques importantes (Lejon et al. 2007) : inhibition de la décomposition de la litière en forêt, de la minéralisation du carbone, de la transformation de l'azote, de la décomposition des polluants organiques et xénobiotiques, ralentissement de la croissance et de l'activité des mycorhizes, etc. La vie dans un environnement pollué influence les microorganismes de nombreuses façons. La diversité et l'activité bactériennes peuvent être influencées et varier en fonction de la disponibilité des métaux. La présence des métaux peut affecter la croissance (développement et sporulation), la morphologie (formes anormales viables et non viables) et les activités biochimiques (photosynthèse, respiration et synthèse d'ATP, fermentation, réplication de l'ADN, synthèse de l'ARN, etc.) de tous les microorganismes. Pour faire face à la toxicité des métaux et atténuer leurs effets, les microorganismes et les bactéries en particulier doivent utiliser des mécanismes intrinsèques ou induits qui imposent une plus grande demande énergétique. La tolérance correspond à la capacité à faire face à la toxicité des métaux grâce à des propriétés intrinsèques des microorganismes. Tandis que la résistance correspond à la mise en place de mécanismes de détoxification en réponse à la toxicité des métaux. Différents mécanismes existent tels que : le maintien à l'extérieur de la cellule du métal (par des mécanismes d'efflux ou volatilisation), la transformation du métal en une forme moins toxique (par production de ligands, alkylation ou minéralisation) (Ledin 2000).

Dans le cadre du projet Cuivre financé par le programme ECCO en 2003, et en collaboration avec Lionel Ranjard (INRA Dijon, coordonateur), nous avons cherché à mettre en relation la spéciation du cuivre, et notamment sa biodisponibilité (Figure 29), avec son impact sur la microflore, en suivant l'évolution de la biodiversité microbienne caractérisée par la technique ARISA (Lejon et al. 2007, 2008).

Nous avons étudié en particulier l'effet de la matière organique sur cet impact, en utilisant un sol de vigne limoneux amendé avec divers type de matières organiques plus ou moins labiles (Lejon et al. 2008). Les résultats obtenus (Figure 33) montrent qu'effectivement, la seule situation où un effet a pu être observé est celle du sol témoin non amendé, 15 jours après la contamination au cuivre. On se souvient ici que la concentration en cuivre biodisponible est justement la plus importante dans ce sol (Fig. 28 et 29) et qu'elle diminue rapidement au cours de la semaine qui suit l'apport du métal. Ce résultat est donc en accord avec un impact du cuivre sur la communauté microbienne que l'on retrouve encore 15 jours après la contamination mais qui a disparu au bout de 30 jours. Cet impact semble donc transitoire puisqu'on observe une résilience du système sol avec un retour à l'état initial. L'absence d'impact du cuivre pour les autres situations confirme l'effet protecteur de la matière organique vis-à-vis d'un apport exogène de cuivre en contrôlant notamment la biodisponibilité du Cu.

Comme pour le cuivre, et malgré des cinétiques de sorption quasi instantanées (Guiné et al. 2003), j'ai observé avec le mercure des effets de toxicité importants pour les populations microbiennes dans les sols avec également un effet de résilience de cet effet en quelques jours, comme par exemple dans la figure 31. Cette résilience s'observe aussi bien au niveau de la population bactérienne qu'au niveau de la communauté microbienne, ce qui constitue un résultat important car cela signifie que dans nos conditions, l'impact du métal n'induit pas d'effet durable sur les microorganismes avec par exemple l'apparition et la persistance de populations opportunistes pouvant être indésirables. La forte biodiversité microbienne observée dans ces sols est certainement à l'origine de ce type de réponse du système sol à un apport exogène de polluant.

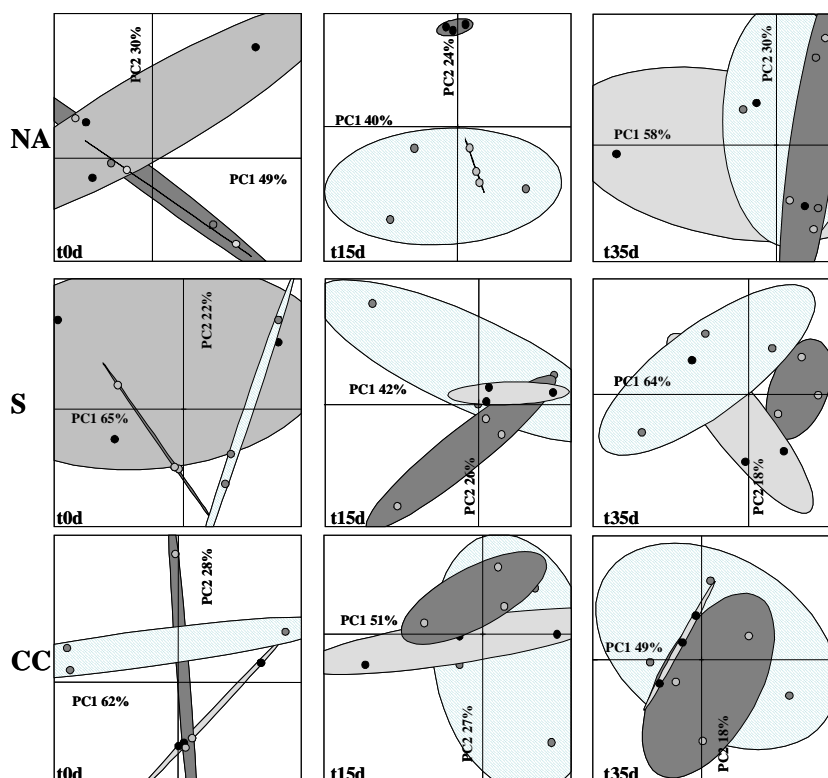


Figure 33 : Analyse en composantes principales (ACP) de la carte factorielle générée à partir des profils de biodiversité bactérienne (ARISA) dans les trois sols NA (●), S (●), et CC (●), 0, 15 et 35 jours après la contamination au cuivre. Les ellipses constituent l'intervalle de confiance de 90% (Lejon et al. 2008).

La similarité entre ces deux métaux est probablement leur très forte affinité pour la matière organique, en partie en raison de leur hydrophobie, ce qui leur confère un comportement physico-chimique relativement proche et qui limite leur impact sur les microorganismes dans les milieux à forte teneur en matière organique réactive.

Cas des polluants organiques

Le cas des polluants organiques est assez différent de celui des éléments minéraux comme les éléments métalliques non essentiels, car ceux-ci ne sont pas biodégradés, contrairement à la très grande majorité des polluants organiques. Ces aspects étant très largement documentés, notamment dans ma thèse (Martins 1993), je ne les détaillerais pas plus avant. Je présenterais seulement ici des cas qui me semblent bien illustrer les résultats présentés dans les paragraphes précédents, notamment sur la biodisponibilité des polluants.

Les études que j'ai menées sur la toxicité et l'impact de polluants organiques concernent de nombreux types de composés organiques, dont certains que nous avons déjà vus dans les sections précédentes. Je m'attarderais plus particulièrement sur les deux types de polluants suivants :

- le pentachlorophénol, avec lequel j'ai pu évaluer l'effet d'un polluant organique sur une population microbienne introduite dans un sol stérile ou non,

- quatre dinitrophénols qui m'ont permis d'évaluer la toxicité croisée d'un mélange de quatre polluants sur la microflore indigène d'un sol non stérile.

Ainsi, dans le cas du pentachlorophénol, j'ai pu montrer (Figure 34), qu'une concentration faible (10 mg L^{-1}) de ce polluant n'affecte pas significativement la survie ou la dynamique d'une population bactérienne modèle adaptée à sa dégradation, *R. chlorophenolicus*. Au contraire, dans le même sol contaminé avec une concentration forte de ce polluant (100 mg L^{-1}), cette bactérie n'est plus capable de se développer, au moins pendant une douzaine de jours puis, seulement, commence à coloniser progressivement le sol pour atteindre le niveau de la capacité biotique observé dans le sol non contaminé. Ces résultats montrent, en particulier, que ce type de composés présente un impact transitoire sur une population microbienne modèle. Comme pour le cuivre, cet impact semble résilient et disparaît au fur et à mesure que le polluant se redistribue dans le sol et devient moins biodisponible (comme c'était le cas pour le cuivre et le mercure dans les exemples précédents) ou au contraire progressivement dégradé (ce que nous n'avons malheureusement pas pu vérifier en raison de la difficulté à extraire le PCP du sol, et en absence de marquage radioactif de la molécule).

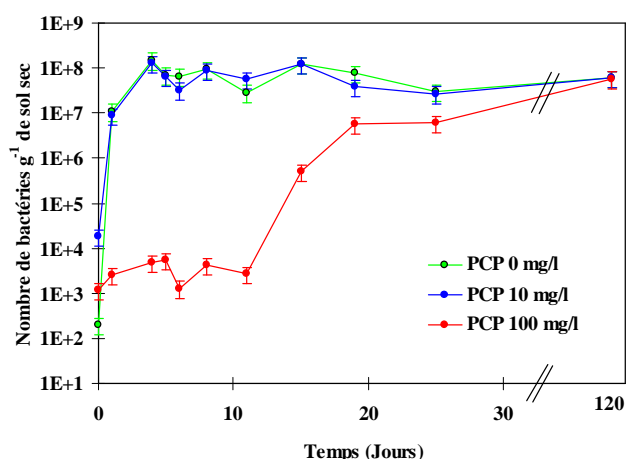


Figure 34 : Effet d'une contamination au pentachlorophénol à 0, 10 et 100 mg L^{-1} sur la dynamique d'une population de *R. chlorophenolicus* sp. introduite dans le sol LCSA (Martins 1993).

Avec les quatre dinitrophénols présentés dans la figure 18, j'ai évalué leur impact sur la microflore indigène d'un sol sableux alluvial (Figure 35), lorsqu'ils sont introduits seuls ou en mélange dans le sol sous forme de suspension (barres pleines) ou de microcosmes de sol non saturé en eau. Ainsi, par une méthode très simple et classique d'énumération de la microflore hétérotrophe cultivable totale, j'ai pu observer, dans les suspensions de sols (c'est-à-dire avec un contact polluant-microorganismes optimal) un effet toxique (diminution du nombre de CFU : colonie formant unité), corrélé avec la structure et la complexité de la molécule et en particulier la nature et la taille du substituant en position 6 des dinitrophénols. En effet, j'ai pu observer que les deux composés les plus simples (2,4DNP et DNOC) ne présentent pas de toxicité apparente, voire ils auraient même tendance à induire une augmentation du nombre de bactéries présentes en servant de source de C (Fig. 35), en accord avec leur forte biodégradabilité (Martins and Mermoud 1998). Les deux molécules les plus grosses, au contraire induisent une diminution significative (d'un facteur 100) du nombre de bactéries indigènes cultivables présentes dans le sol après 10 jours de contact, indiquant une toxicité relativement importante vis-à-vis des bactéries de ce sol.

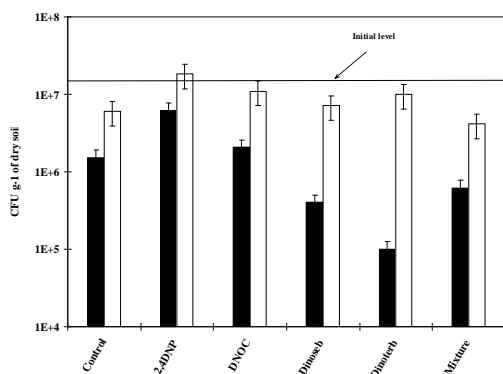


Figure 35 : Effet de quatre dinitrophénols sur la microflore bactérienne hétérotrophe cultivable du sol alluvial du site de Charat (CH) après 10 jours de contact en suspension de sol (■) et en microcosmes de sol non saturé en eau (□) (Martins and Mermoud 1998)

Lorsque ces composés sont introduits en mélange en suspensions de sol, la toxicité globale observée est significativement inférieure à celle observée pour les deux composés les plus toxiques (dinosèbe et dinoterb), indiquant que l'effet positif lié à la présence des deux composés les plus labiles compense partiellement la toxicité des deux autres composés.

Dans les essais effectués avec des microcosmes de sol non saturé en eau et à densité apparente sèche proche de celle du terrain, on n'observe pas d'effet toxique (diminution du nombre de microorganismes) significatif pour les 4 herbicides.

Ce résultat indique que la structure du sol, lorsqu'elle est conservée, limite l'accessibilité des polluants aux cellules microbiennes et donc leur impact sur celles-ci dans le cas du DNSB et du DNTB, ou la dégradation pour les deux autres molécules.

Ces résultats sont particulièrement intéressants et illustrent bien le contrôle de la biodisponibilité des polluants dans les sols, à la fois par les mécanismes liés à leur accessibilité aux microorganismes (cinétique de transfert de masse à travers les microstructures des sols) et leur disponibilité (mise en contact et entrée dans les cellules).

Ces résultats confirment donc que l'identification du cheminement de l'eau et des différentes formes de polluants dans les sols est de première importance pour la compréhension de l'évolution de l'environnement édaphique, car l'itinéraire et la cinétique de transport conditionnent les interactions et impacts des contaminants dans les sols et donc leur biotransformation.

Dans le cadre de mes travaux j'ai été amené à évaluer la toxicité de certains polluants sur des populations microbiennes pour déterminer des concentrations d'inhibition minimales (MIC) de divers éléments comme le cuivre ou le Cd. Ces valeurs, même si elles sont difficilement transposables en un paramètre de prédiction de la toxicité *in situ*, permettent néanmoins de comparer les polluants entre eux. C'est ainsi qu'on a pu établir que le mercure et le cadmium sont les deux éléments les plus toxiques que j'ai eu à évaluer, bien plus que le Zn ou le cuivre, métaux essentiels (Guiné 2006).

Des tests de toxicité simples tels que le test de Microtox[®] (Martins et al. 2001), bien que peu spécifiques car reliant un effet de toxicité à une baisse d'émission de lumière d'une bactérie luminescente, renseignent toutefois sur la toxicité relative de polluants seuls ou en mélange, et surtout permettent d'évaluer la toxicité de polluants instables (sujets à hydrolyse) tels que le rimsulfuron dont la demie durée de vie en solution n'est que de quelques heures. Ainsi ce test rapide de moins d'une heure permet d'évaluer effectivement l'impact de la molécule mère et non celui de son premier métabolite. Le choix du test de toxicité doit donc se faire également en fonction du type de toxique étudié (Martins et al. 2001).

3.5. Biotransformation des micropolluants dans les sols

Comme nous venons de le voir, la biotransformation des polluants dans les sols est largement contrôlée par des facteurs physico-chimiques comme la spéciation du métal, sa toxicité, sa biodégradabilité, ou encore son accessibilité aux acteurs de la biodégradation.

Du point de vue de la modélisation de la biodégradation des polluants, ces phénomènes sont le plus souvent inclus dans une phase de latence précédant l'initiation du processus de dégradation lui-même, ce qui en simplifie la représentation mathématique. De même, si la biodisponibilité des polluants varie au cours du temps en raison, par exemple de phénomènes de transfert de masse entre fractions d'eau liquide mobile et immobile ou entre liquide et solide, ou simplement par diffusion dans un micro-agrégats de sol, ou encore si la microflore s'adapte à la dégradation du polluant (adaptation génétique induisant une augmentation des constantes de dégradation au cours du temps), on peut modifier la cinétique de dégradation du polluant en la décomposant en deux parties distinctes, chacune présentant ses propres paramètres spécifiques (μ et $T_{1/2}$). Ainsi, j'ai utilisé ce type d'approche pour la représentation de la biodégradation de quatre dinitrophénols dans un sol alluvial de la plaine du Rhône (site des Charrat, CH) en suspensions d'herbicides seuls ou en mélange et en microcosmes de sol non saturé en eau (Martins and Mermoud 1998).

Cette représentation est utilisée par exemple lorsque l'Equation 14 est mise en défaut (e.g. Zimdahl et al. 1994). Dans ces situations, on peut utiliser l'équation suivante qui est une modification de l'Eq. 14 :

$$C = ae^{-Kt}t^b \quad [21]$$

où a et b sont des constantes, t est le temps et K est la constante du taux de dégradation.

L'équation 21 peut être linéarisée en (Martins and Mermoud 1998) :

$$\ln C = \ln a - Kt + b \ln t \quad (22)$$

Si la constante b est égale à 0, alors on retrouve l'équation 14. Une valeur négative de b indique que la dégradation du polluant est rapide juste après son introduction dans le sol, et devient ensuite plus lente en raison des phénomènes de diminution de la biodisponibilité évoqués ci-dessus.

Bien que très pratiques pour représenter la très grande majorité des cinétiques de biodégradation des polluants dans les sols, la représentation mathématique des phénomènes de biodégradation ne pourra être prédictive et transposable qu'à la condition d'être basée sur la compréhension réelle du fonctionnement biologique des sols : localisation, dynamique et structuration des populations, compétition, prédation, activités et cycles de dégradation soit, en d'autres termes, l'écologie microbienne des sols.

C'est ce sur quoi je me suis focalisé ces dernières années à travers les diverses études que j'ai menées dont je présente ci-après certains des résultats les plus intéressants pour illustrer mes propos.

Dégradation du rimsulfuron et de ses métabolites

Dans le cadre d'un projet interdisciplinaire sur le devenir d'une sulfonyleurée (Collab. Hydram EPFL, Pédologie EPFL, CPB CNRS Nancy et Dupont de Nemours, Mulhouse) de dernière génération, le rimsulfuron (Figure 36), et en particulier sur sa dégradation, j'ai évalué l'effet de sa formulation et de sa concentration sur sa dégradation en deux métabolites principaux (les standards d'analyse de ces deux métabolites nous ont été fournis par la société Dupont de Nemours, partenaire du projet).

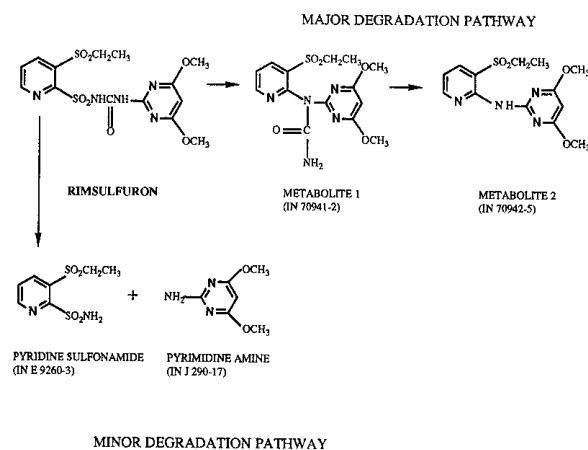


Figure 36 : Structure chimique du rimsulfuron et de ses principaux métabolites. (Martins et al. 2001).

Je me suis intéressé à l'effet de la formulation de l'herbicide sur sa cinétique de dégradation dans le sol alluvial de Charrat (CH). La formulation correspond aux adjuvants de la molécule apportés pour la stabiliser dans le milieu naturel afin de la rendre active suffisamment longtemps pour qu'elle joue son rôle d'herbicide).

Les résultats obtenus sur la transformation du rimsulfuron formulé ou non, dans le sol alluvial (figure 37) montrent globalement un comportement similaire pour les deux études avec la dégradation du rimsulfuron en métabolite 1, lui-même dégradé en métabolite 2, qui tend à s'accumuler dans le sol, indiquant qu'il y est faiblement dégradé. Les résultats expérimentaux sont correctement modélisés à l'aide des équations Eq.14 (rimsulfuron), Eq.19 (métabolite 1) et Eq.20 (métabolite 2).

La principale différence observée avec le rimsulfuron formulé est que la cinétique de dégradation est plus lente et que sa demi durée de vie est d'environ 150h, soit 6 jours, alors qu'elle n'est que de 48h pour la molécule pure. La formulation permet donc bien de stabiliser la molécule et de lui assurer une persistance suffisante pour exercer son activité herbicide après son application.

Ces résultats montrent qu'un polluant peut être rapidement dégradé (essentiellement par hydrolyse) en deux métabolites qui eux vont s'accumuler dans le sol et donc être potentiellement toxiques. Il convient donc pour ces molécules de s'intéresser également à leur devenir dans le sol compte tenu du

risque potentiel qu'elles présentent. Ceci rajoute donc une composante importante à l'étude du devenir des polluants organiques dans les sols qui est le comportement de molécules filles récalcitrantes et potentiellement toxiques. Ceci doit, par exemple, être pris en compte dans la directive européenne REACH qui implique des études complètes pour chaque molécule allant jusqu'aux métabolites les plus récalcitrants (les industriels de l'agrochimie sont déjà sensés fournir ce genre d'information de manière assez précise).

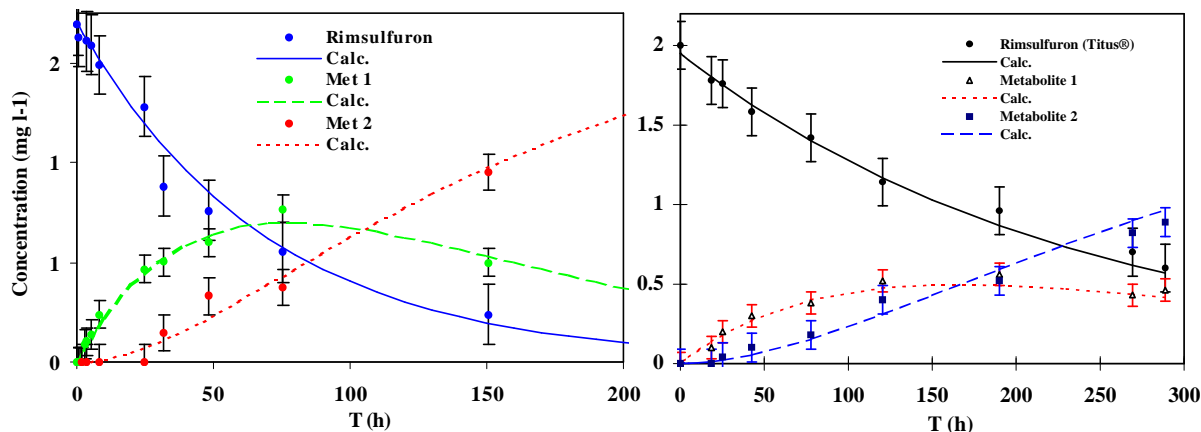


Figure 37 : Degradation of pure rimsulfuron (Left) and Titus® (right) in alluvial soil slurries. The error bars correspond to \pm one standard deviation calculated with the triplicates. ($C_0 = 1.7$ and 2 mg l^{-1} , respectively; $k_{\text{rim.}}$ (ou μ_c) = 0.013 h^{-1} , $k_{\text{Tit.}}$ (ou μ_c) = 0.0039 h^{-1}) (Martins et al. 2001).

J'ai également évalué l'effet de la concentration de ces deux métabolites sur leur propre dégradation en suspensions de sol (Figure 38). Comme précédemment, la dégradation du métabolite 1 s'accompagne de la production du métabolite 2 qui s'accumule temporairement, quelle que soit la concentration étudiée. Celle-ci ne semble d'ailleurs pas affecter la cinétique de dégradation, indiquant probablement un mécanisme de dégradation chimique majoritaire. La demi durée de vie du métabolite 1 est d'environ 4 jours, deux fois supérieure à celle de la molécule mère. Dans la figure 38 (Droite), on peut voir que pour le métabolite 2 au contraire, la concentration initiale a un effet sur sa cinétique de dégradation (disparition plus rapide à faible concentration), suggérant plutôt un mécanisme de dégradation biologique. Comme précédemment, ces cinétiques sont correctement représentées par les relations empiriques Eq.14 et Eq.19, qui nous permettent de calculer une demi-durée de vie pour ce métabolite variant de 24 à 55 jours suivant la concentration initiale utilisée.

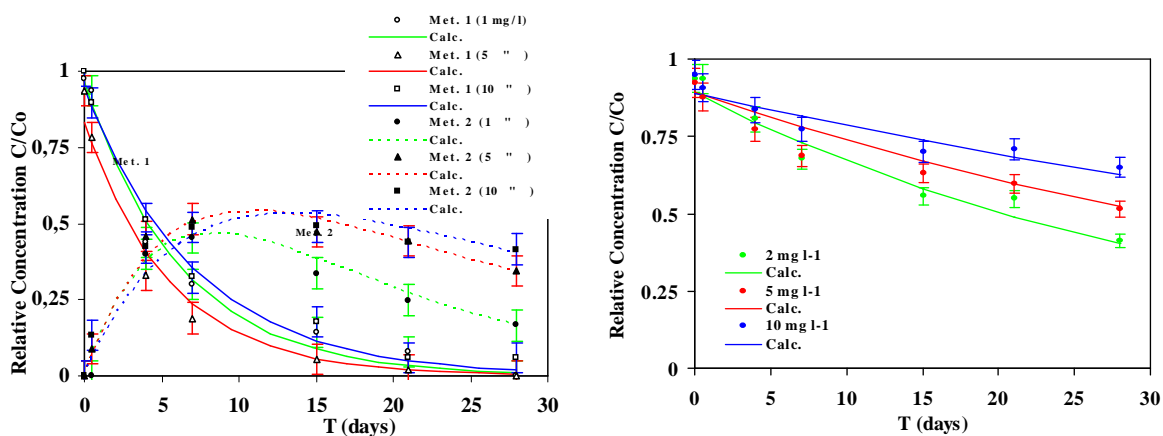


Figure 38 : Effet de la concentration initiale sur la dégradation des métabolites 1 et 2 du rimsulfuron (Fig. 11) (Martins et al. 2001).

Ces résultats montrent la complexité des processus de transformation des polluants dans les sols, et notamment qu'ils peuvent être chimiques ou biologiques (voire physiques, à la surface des sols), et présenter des cinétiques assez variables pour ce type de molécules. Dans ces situations seule une approche empirique permet de représenter correctement ces mécanismes de transformation car il est difficile de les distinguer précisément et ils sont beaucoup trop coûteux financièrement et en temps.

Effet des co-contaminants sur les biotransformations.

L'étude sur les quatre dinitrophénols, déjà évoquée précédemment a permis d'évaluer l'effet de co-contaminants sur les processus de dégradation dans les sols. Bien que les multi-contaminations soient extrêmement fréquentes, pour ne pas dire la règle dans les sites contaminés, les études de biodégradation ou de biodisponibilité intègrent rarement l'effet de la présence d'autres composés, éventuellement toxiques, sur la transformation du composé d'intérêt. C'est pourquoi je me suis penché sur cette question, sans bien sûr prétendre à l'exhaustivité, en étudiant la dégradation de ces quatre molécules de la famille des dinitrophénols, seules ou en mélange, et en suspensions ou en microcosmes de sols structurés et non saturés en eau.

L'étude menée en suspensions de sols (Figure 39), situation pour laquelle le contact polluant-microorganismes est maximal, a montré un effet particulièrement intéressant de la présence simultanée de plusieurs contaminants sur la dégradation de chacun et en particulier des deux plus biodégradables, le 2,4DNP et le DNOC. Pour ces deux composés, les cinétiques de dégradation sont largement ralenties en présence de dinosèbe et dinoterb, qui comme on l'a vu dans la figure 35, présentent une toxicité importante pour les microorganismes du sol. Les cinétiques observées, initialement représentées par une cinétique d'ordre 0 avec les composés seuls, suivent alors une loi d'ordre 1 en mélange, voire même d'ordre 2 si on considère les phases de latence observées. Ces résultats indiquent que le mécanisme principal de dégradation est plutôt biologique et que la phase de latence observée correspond à une phase d'adaptation ou de croissance des populations dégradant ces polluants.

Dans le cas du dinosèbe et du dinoterb, l'effet des co-contaminants existe également, bien que nettement moins prononcé qu'avec les deux molécules les plus labiles. Les cinétiques observées sont relativement lentes, notamment avec les herbicides en mélange. Les demi durées de vie de ces deux composés sont présentées dans le tableau 7. Globalement, en suspension la présence de co-contaminants induit une augmentation de la persistance ($T_{1/2}$) d'un facteur 6 et 3 pour les deux composés les plus labiles et les deux plus récalcitrants, respectivement.

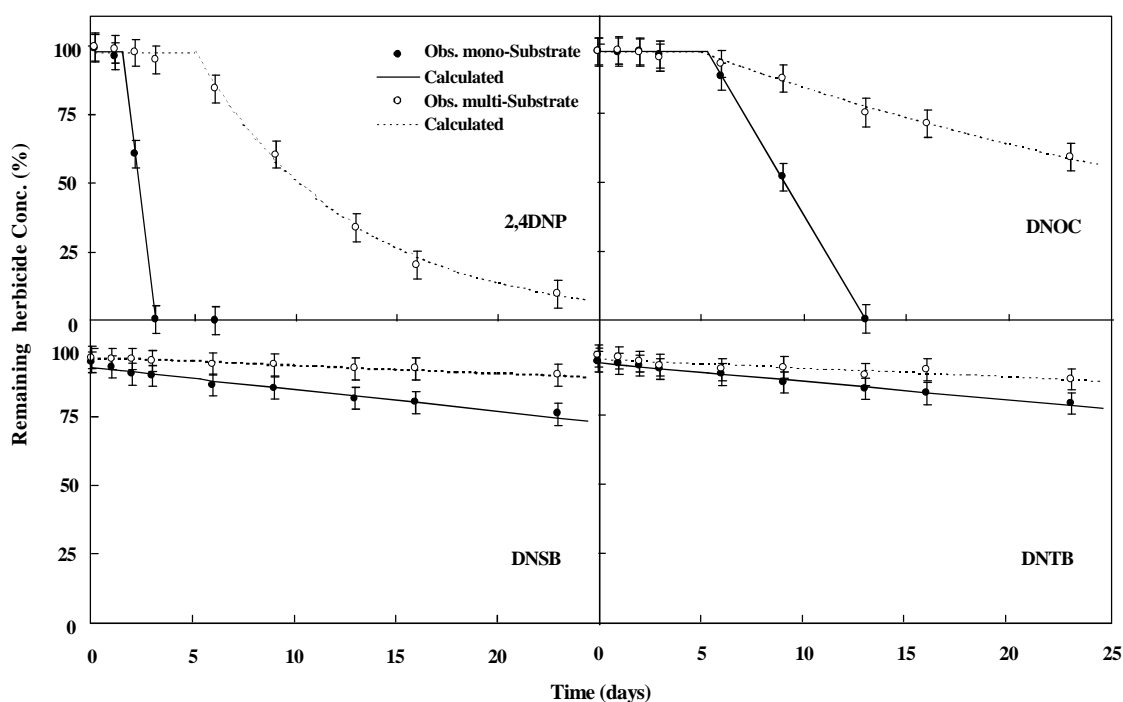


Figure 39 : Cinétiques de dégradation de quatre herbicides dinitrophénols seuls ou en mélange dans le sol alluvial de Charrat (CH) (Martins and Mermoud 1998).

Pour les essais en microcosmes de sol recompacté à la masse volumique apparente sèche mesurée *in situ* et non saturé en eau, sont présentés dans la figure 40. Les résultats obtenus dans le sol structuré et non saturé en eau, sont assez différents de ceux obtenus en suspension, notamment pour

le 2,4DNP, pour lequel l'effet des co-contaminants n'est plus observé, indiquant que l'effet toxique observé en suspension n'intervient plus dans le sol structuré. En effet pour ce composé les cinétiques de dégradation sont identiques et très rapides (Tableau 7).

Pour le DNOC, en revanche, les résultats montrent un effet de toxicité des autres herbicides puisque sa dégradation est très nettement retardée. Ainsi, une phase de latence de près de 8 jours est observée qui correspond au temps nécessaire pour que la microflore adaptée à sa dégradation et résistante à la présence du dinosèbe et du dinoterb, se développe suffisamment pour induire une diminution de sa concentration. Après cette phase de latence, la cinétique de dégradation est sensiblement identique en systèmes mono- et multi-composés. Dans ce dernier cas, la modélisation la plus adaptée, consiste donc simplement à introduire une phase de latence dans le modèle de dégradation ou, pour être plus rigoureux, à introduire une cinétique de biodégradation du second ordre, prenant en compte la dynamique de population bactérienne adaptée à sa dégradation comme par exemple avec l'équation 15.

Dans le cas du dinosèbe et du dinoterb, on observe un comportement assez proche de celui observé en suspensions de sol, indiquant que pour ces composés les transferts de masse imposés par la structuration du sol ne semblent pas limitants pour la dégradation. Toutefois dans les systèmes multi-composants, on observe une rupture de pente très nette dans la cinétique de leur dégradation, indiquant une évolution temporelle de la constante du taux de dégradation. Cette évolution est probablement liée à des effets de sorption ou de diffusion intraparticulaire qui limitent l'accessibilité des molécules aux microorganismes impliqués dans leur dégradation, ce qui se traduit au final par une modification de leur biodisponibilité. Ces cinétiques ont été modélisées à l'aide des équations 21 et 22, qui intègrent cet effet de variation temporelle du paramètre μ_c (Martins and Mermoud 1998).

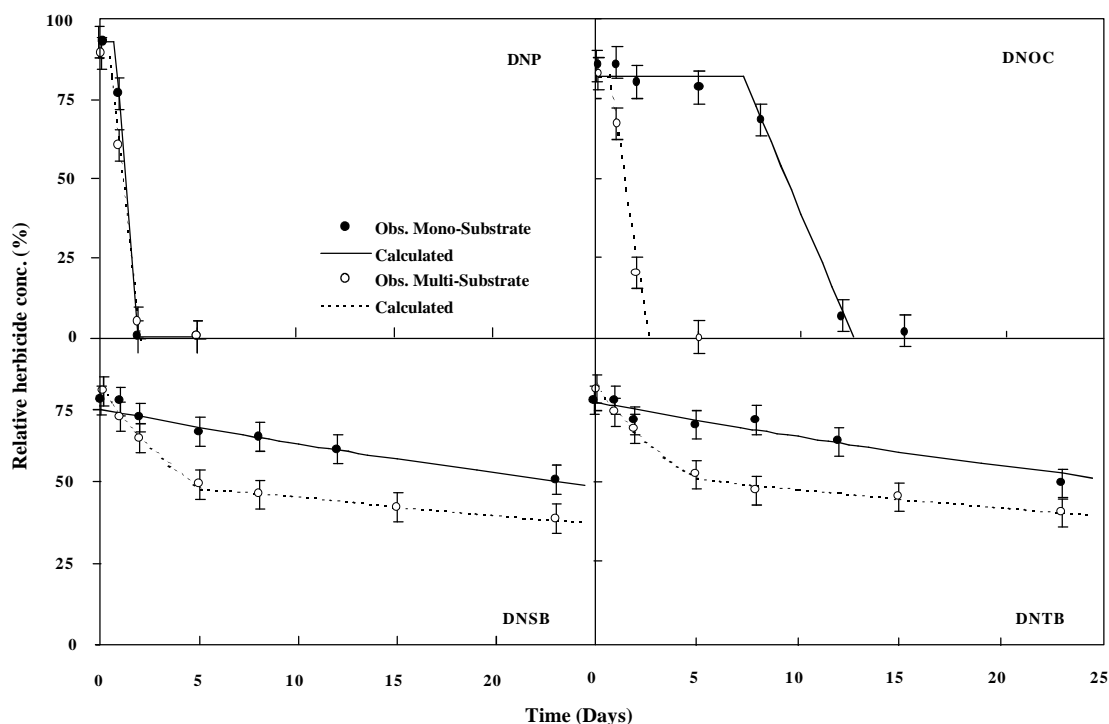


Figure 40 : Cinétiques de dégradation de 4 herbicides Dinitrophénol en mono- et multi-composés ($25 \mu\text{g g}^{-1}$) en microcosmes de sol alluvial de Charrat (CH) non saturé en eau (15% V/V). (Martins and Mermoud 1998).

Ainsi, dans ces microcosmes de sol à la structure relativement préservée, le contact entre les polluants et les microorganismes, (qui est maximal en système dispersé), est probablement le facteur limitant pour la biodégradation via un effet sur la toxicité. Cette hypothèse est renforcée par le calcul du ratio molécules sorbées/ molécules en solution (80% sur 20%) à partir des isothermes de sorption (Figure 19) sur la base du rapport sol/eau de 6, utilisé.

On peut donc conclure que les essais de biotransformation en suspension de sol, renseignent plutôt sur les potentialités de dégradation d'un polluant donnée ou d'un mélange, en intégrant notamment

les effets de toxicité qui sont maximisés (Martins and Mermoud 1998). Toutefois, les essais en microcosmes de sol dont la structure est préservée au mieux (voire non remaniés) sont sans aucun doute mieux adaptés que les suspensions de sols pour la prédiction des phénomènes de bioaccessibilité des polluants et de biodisponibilité. En effet, ces deux phénomènes ainsi que le transfert vers les microorganismes (qui ne sont pas distribués au hasard dans les microstructures des sols, Monrozier et al. 1993), sont inévitablement sous le contrôle, au moins en conditions naturelles, des cinétiques de transfert de masse (Figure 5) et de sorption sur les surfaces solides des sols (Monrozier et al. 1993, Martins et al. 1997).

Tableau 7. Degradation parameters calculated for the four dinitrophenol herbicides used in mono and multi-substrate suspensions or solid batches of an alluvial sandy loam. The concentration was 20 mg l⁻¹ for each herbicide. The solid batches were spiked at 25 µg g⁻¹ of soil.

Herbicides		DNP		DNOC		Dinoseb		Dinoterb	
Substrate		Mono- _a	Multi- _b	Mono- ^a	Multi- ^b	Mono- ^a	Multi- ^b	Mono- _a	Multi- ^b
Soil aqueous suspensions	k ₁ (Day ⁻¹)	12.1	0.13	2.5	0.028	0.16	0.0032	0.14	0.0035
	T _{1/2} (Days)	0.8	5	3.8	25	59	216	68	198
	Lag period (Days)	1.5	5	5.3	5	0	0	0	0
Unsaturated soil batches	k ₁ (Day ⁻¹)	19.25	1.9	3.8	1.6	0.017	0.1 ⁽¹⁾ 0.015 ⁽²⁾	0.015	0.09 ⁽¹⁾ 0.0149 ⁽²⁾
	T _{1/2} (Days)	0.6	0.8	2.7	0.9	41	6.9 ⁽¹⁾ 46 ⁽²⁾	46	7.7 ⁽¹⁾ 46.5 ⁽²⁾
	Lag period (Days)	0.8	0.5	7	0.6	0	0	0	0

a/ Parameters calculated with a zero order model, b/ Parameters calculated with the first order model (Eq. 14), c/ Parameters calculated with the Hoerl's model (Eq. 21-22), (1) Parameters calculated from the first part of the dissipation curve, (2) Parameters calculated from the second part of the dissipation curve

4. PROCESSUS DE TRANSFERT REACTIF DES MICROPOLLUANTS

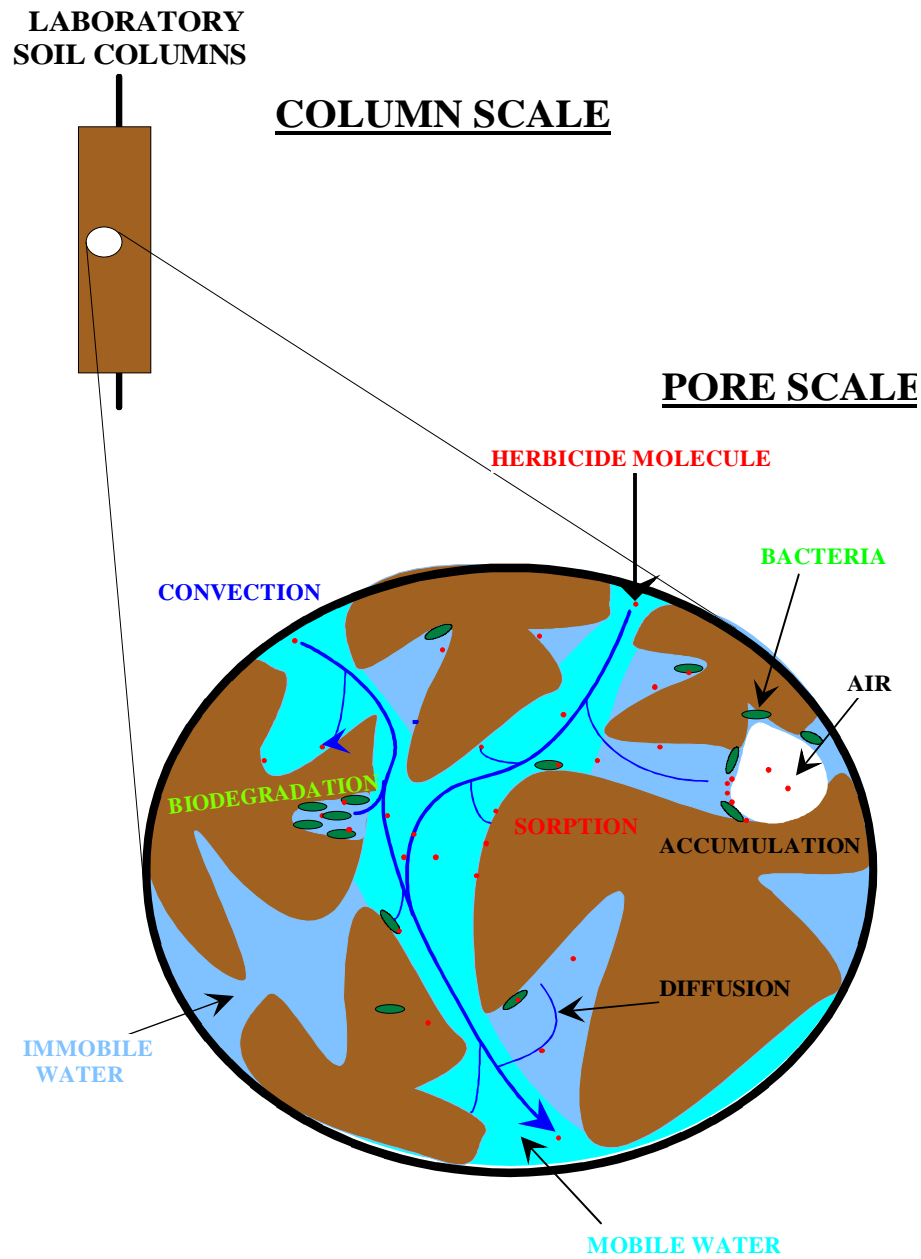


Figure 41 : Représentation schématique des écoulements hydriques dans les sols à l'échelle du pore : mise en évidence de la circulation de l'eau et des micropolluants dans la macroporosité et dans la microporosité du sol, expliquant les contacts potentiels entre polluants et surfaces minérales, organiques et biologiques.

4.1 Introduction

La description des transferts réactifs de solutés dans les sols a fortement évolué ces dernières années, en passant d'une approche presque exclusivement mono-élément chimique (convection - dispersion avec facteur de retard fondé sur la notion de coefficient de partage K_d) à une prise en compte de réactions chimiques homogènes et hétérogènes multi-éléments (e.g. Gaudet and Vauclin 2005). Cette évolution, initiée en génie des procédés (Villiermaux 1980, Schweich and Sardin 1981), est maintenant largement reprise par la géochimie environnementale grâce aux progrès tant expérimentaux (meilleure résolution des analyses chimiques, développement de méthodes spectrométriques pour la spéciation chimique, e.g. Sigg et al. 1992) que de modélisation (résolution simultanée de systèmes linéaires et d'équations aux dérivées partielles non linéaires, e.g. Jury and Roth 1990, Bear 1991, Lichtner et al. 1996).

Ainsi différents modèles géochimiques, avec des degrés de complexité variés, ont pu être développés pour prévoir la fixation et la migration des polluants dans les sols. Pour les plus sophistiqués, ces modèles peuvent combiner de manière indirecte les réactions d'adsorption par les constituants du sol, les équilibres en solution, la biotransformation et les équations de transport de l'eau. Si la validation de certains de ces modèles a permis de simuler correctement la migration de polluants dans les sols (e.g. Montero et al. 1994, Suarez and Simunek, 1996, Munoz et al. 1997, Selim et al. 1999...), il s'est avéré que dans certains cas ces modèles sous-estiment largement cette migration, comme pour beaucoup de radioéléments, aujourd'hui connus pour être principalement mobilisés par transport particulaire (Crançon 2001, Haas et al. 2001, Sen and Khilar 2006)

Dans les sols (ainsi que dans les autres compartiments), les transferts de masse se font sous forme liquide, gazeuse ou particulaire. Les questions scientifiques posées vont concerner par exemple des transferts d'eau et de polluants dans des milieux souvent déformables, soumis à des variations de température, en présence d'interactions de surface (sorption) et d'un compartiment vivant (biofilm, colonies bactériennes), lui aussi potentiellement mobilisable.

Comme cela a été relevé dans les sections précédentes, les micropolluants sont présents dans les sols et les sédiments à faible ou très faible teneur et généralement sous forme relativement peu mobile. Les apports anthropiques, localisés ou diffus, ou les modifications liées aux activités humaines qui accentuent les transports particuliers par les hydrosystèmes, contribuent à des enrichissements très significatifs, c'est le cas par exemple dans les zones urbaines (bassins d'infiltration d'eaux pluviales) ou dans les sols de viticulture ou de culture intensive (les meilleurs exemples sont probablement le cuivre ou l'atrazine). Une fois adsorbés, ces polluants peuvent, par les chaînes de transfert que constituent l'eau, l'air et les plantes, sans omettre des circuits plus longs, tels que la contamination des sédiments d'estuaires, être solubilisés et déboucher sur des voies d'exposition humaine comme la chaîne alimentaire.

Ainsi, la connaissance simultanée de la concentration, de la distribution des polluants dans les différents compartiments du système édaphique (solide, solution, organismes) et aussi de la spéciation chimique des polluants, est absolument indispensable pour diagnostiquer un niveau de contamination à l'exutoire et en prévoir les effets et risques potentiels à plus ou moins long terme sur notre écosystème.

Après avoir présenté la modélisation type et la démarche appliquées dans mes différents travaux, je présenterais des résultats spécifiques concernant l'effet de divers facteurs sur le transfert réactif de micropolluants dans les sols, tels que la MO, le pH, la teneur en eau, la concentration en polluant ou en particules mobiles ou encore la vitesse d'écoulement.

Un des points forts de mes travaux a été de montrer le rôle important (prépondérant sous certaines conditions hydrodynamiques) des colloïdes, et en particulier des microorganismes, dans la rétention et le transport des micropolluants organiques et inorganiques dans les sols, phénomène qui a longtemps été négligé et reste encore aujourd'hui difficile à évaluer *in situ* (Citeau 2003, Sen et al. 2006) car contrôlés par des processus fortement non linéaires (pluviométrie, force ionique, activité biologique...).

Cet aspect a fait l'objet au LTHE des travaux menés dans le cadre de ma thèse (Martins 1993) sur le pentachlorophénol, de la thèse de Véronique Guiné (2006) sur le Zn, le Cd et le Hg sous ma direction, et se poursuivent aujourd'hui avec la thèse d'Elsa Vitorge sur les bio- et nano-particules, que je co-dirige avec J.P. Gaudet et S. Szenknect. Ces études sont basées sur une approche de type dynamique des systèmes en colonnes de sols, qui permet de contrôler parfaitement les conditions biogéochimiques impliquées dans le transfert réactif des polluants. Nous avons ainsi caractérisé les

principaux facteurs biotiques et abiotiques contrôlant la mobilité des bactéries dans les sols et développé une modélisation intégrant ces facteurs dominants en collaboration avec L. Spadini (LGIT). En plus d'être rapidement mobilisées dans les sols, les cellules bactériennes peuvent, sous certaines conditions, accélérer fortement le transport de polluants métalliques, comme nous avons pu le montrer avec le Zn, le Cd ou le Cu et le prédire par une modélisation couplée hydrodynamique et géochimique (Guiné et al. 2003, Guiné 2006).

Les recherches conduites dans cet axe sont sous tendues par de nombreuses préoccupations environnementales telles que l'aide au diagnostic de la pollution des sols et des eaux souterraines, à leur vulnérabilité et leur dépollution, à la mise en place de politiques publiques d'un développement durable des activités agricoles, industrielles et urbaines.

Les moyens mis en oeuvre consistent à observer, expérimenter, conceptualiser et modéliser les processus à différentes échelles spatio-temporelles. Devant la difficulté (fréquente) d'élucider au niveau des objets dits naturels, les différentes hypothèses (souvent contradictoires) susceptibles d'expliquer le fonctionnement hydrochimique des hydrosystèmes souterrains, difficilement observables, la démarche adoptée consiste en :

- i) *la réalisation d'essais « batch »*, très largement relatés dans la littérature, relativement faciles à mettre en oeuvre, plutôt adaptés aux équilibres chimiques, mais pas toujours représentatifs des conditions de terrain ;
- ii) *la conduite d'essais sur colonnes de sol* percolées par un flux d'eau et par des créneaux de solutés (inertes ou réactifs avec la matrice du sol), et pour lesquelles les conditions se rapprochent de celles du terrain par le rapport eau/sol et l'hydrodynamique ;
- iii) *l'explication fine des processus* par des études à l'échelle de l'agrégat, de la particule solide, ou de la molécule. Ces dernières sont particulièrement pertinentes pour les biotransformations pour lesquelles le facteur clé est la mise en contact entre le polluant et les microorganismes ;
- iv) *la modélisation* et sa confrontation avec les observations.

On trouvera dans Martins (1993) ou plus récemment dans Gaudet and Vauclin (2005), une description détaillée de cette démarche illustrée, que j'ai mise en oeuvre de 1990 à 2008, pour traiter des problèmes dont les principaux résultats sont synthétisés ci-dessous selon les deux thèmes suivants :

- Transferts réactifs mono- et multi-composants chimiques
- Les microorganismes du sol et les transferts.

4.2. Modélisation des transferts de micropolluants dans les sols

4.2.1. Modélisation des transferts hydriques en milieux poreux

4.2.1.1. Le milieu poreux et l'écoulement en sol non saturé

La description de l'écoulement de l'eau dans les sols est faite classiquement à l'échelle macroscopique de l'élément de volume représentatif (EVR), où le milieu poreux polyphasique peut être considéré comme un milieu homogène continu (e.g. Gaudet 1977, Martins 1993, Moser-Boroumand et al. 1997, Martins and Mermoud 2001), de masse M. et de volume V.

On y définit :

- la porosité [$L^3.L^{-3}$]	$\varepsilon = (V_e + V_g) / V$	[23]
- la teneur volumique en eau [$L^3.L^{-3}$]	$\theta = V_e / V$	[24]
- la masse volumique sèche [$M.L^{-3}$]	$\rho_d = M_s / V$	[25]
- la vitesse de Darcy [$L.T^{-1}$]	$q = Q / S$	[26]
- la pression de l'eau du sol [L]	$h = (p_e - p_g) / \rho_e.g$	[27]

où les indices (s), (e) et (g) sont relatifs aux phases solide, liquide et gazeuse, respectivement.

La vitesse de Darcy est une densité de flux volumique, où Q est le débit traversant la surface S du milieu poreux (le plus souvent le diamètre de la colonne, du lysimètre ou la surface de la parcelle).

La pression de l'eau du sol est exprimée ici en hauteur de colonne de liquide (cm) par rapport à la pression du gaz (généralement prise à la pression atmosphérique $p_g = p_o$).

L'écoulement monodirectionnel vertical (supposé isotherme) de l'eau dans le milieu poreux (considéré comme homogène, isotrope et indéformable) est alors décrit par la relation de conservation de la masse (Hillel 1989, Martins 1993, Gaudet and Vauclin 2005) :

$$\frac{\partial \theta}{\partial t} = -\frac{\partial q}{\partial z} - Q_e \quad [28]$$

(où Q_e est un terme de production ou consommation d'eau dans l'EVR, extraction racinaire en m^3 d'eau extraite par m^3 de sol et par unité de temps [$L^3 L^{-3} T^{-1}$]), et par une relation phénoménologique (loi de Darcy généralisée) :

$$q = -K(\theta) \cdot \left(\frac{\partial h(\theta)}{\partial z} - 1 \right) \quad [29]$$

De par ses relations caractéristiques $K(\theta)$ (conductivité hydraulique [$L \cdot T^{-1}$]) et $h(\theta)$, le système d'équations [28] et [29] est fortement non linéaire et n'admet de solution analytique que dans des cas très particuliers (Haverkamp et al. 1999), rarement observés dans les sols naturels. Lorsque le milieu poreux reste totalement saturé en eau ($\theta = \theta_s$) l'équation précédente devient :

$$q = -K_s \frac{\partial H}{\partial z} \quad [30]$$

où la conductivité hydraulique à saturation K_s a une valeur constante pour un sol homogène, isotrope et indéformable et où H [L] est la charge hydraulique définie par :

$$H = h - z \quad [31]$$

l'axe z étant orienté positivement vers le bas, la surface du sol prise comme origine.

4.2.1.2. Les caractéristiques hydriques d'un sol non saturé

De nombreuses relations fonctionnelles ont été utilisées pour relier les grandeurs dépendantes h , K et θ (e.g. Vauclin et al. 1996, Haverkamp et al. 1999).

La combinaison de la courbe de rétention d'eau $h(\theta)$ exprimée selon van Genuchten (1980) par :

$$S_e = \frac{\theta - \theta_r}{\theta_s - \theta_r} = \left[1 + \left(\frac{h}{h_g} \right)^n \right]^{-m} \quad [32]$$

$$\text{en prenant (Burdine 1953)] :} \quad m = 1 - \frac{2}{n} \quad [33]$$

avec la courbe de conductivité hydraulique de Brooks et Corey (1964) :

$$\frac{K}{K_s} = S_e^\eta \quad [34]$$

est en accord avec la théorie des transferts pour de nombreux sols même avec des caractéristiques différentes (Fuentes et al. 1992).

Les relations [33] à [34] font intervenir les paramètres θ_r (teneur volumique en eau résiduelle), θ_s (teneur volumique en eau à saturation naturelle), h_g (facteur d'échelle de la pression), K_s (conductivité hydraulique à saturation), n et η (facteurs de forme) dont la connaissance est un préalable indispensable (et donc limitant) à toute modélisation.

4.2.1.3. Cas où l'eau ne s'écoule pas avec une vitesse moyenne uniforme v

Les équations [43] ou [47] modélisent un transport convectif, dispersif avec sorption polluant-solide. La vitesse convective v est supposée constante et uniforme (toute l'eau présente dans la porosité s'écoule avec une même vitesse). Ceci n'est pas toujours le cas. Il existe de nombreuses situations où l'eau s'écoule avec plusieurs vitesses en parallèle : écoulements préférentiels dans une macroporosité, eau piégée et immobile, très forte hétérogénéité du sol... (Gaudet and Vaucelin 2005).

Bien sur il est difficile de reprendre ici toutes les modélisations possibles. Toutefois, un cas assez répandu, celui de la partition de l'eau entre deux fractions mobile et stagnante, est très pertinent pour la prise en compte du comportement d'un polluant à micro-échelle (Figure 5), en relation avec les processus de sorption ou de biotransformation (Gaudet et al. 1977, Martins 1993, Martins and Mermoud 1999).

La distribution de vitesse de l'eau est schématisée par une partition de l'humidité entre une fraction volumique d'eau mobile θ_m où la vitesse convective d'un soluté est $v_m = q/\theta_m$ et une fraction d'eau immobile θ_{im} ($v_{im} = 0$). Le traceur de l'eau est un soluté qui reste dans la phase liquide et qui n'est soumis à aucune réaction chimique ou biologique. La conservation de la masse d'eau et de traceur impose :

$$\theta_m + \theta_{im} = \theta \quad [35]$$

$$c_{m,j} \cdot \theta_m + c_{im,j} \cdot \theta_{im} = c_j \cdot \theta \quad [36]$$

où $c_{m,j}$ et $c_{im,j}$ sont les concentrations du traceur j dans les fractions mobile et immobile.

La conservation de la masse de traceur dans un élément volumique représentatif (EVR) de milieu poreux soumis à un écoulement d'eau, avec partition eau mobile – eau immobile s'écrit, en négligeant la dispersion et la diffusion dans l'eau immobile (Gaudet et al. 1977) :

$$\frac{\partial \theta_m \cdot c_{m,j}}{\partial t} + \frac{\partial \theta_{im} \cdot c_{im,j}}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left(D_m \cdot \theta_m \frac{\partial c_{m,j}}{\partial z} \right) - \frac{\partial q \cdot c_{m,j}}{\partial z} \quad [37]$$

Le polluant transite entre les fractions d'eau par diffusion moléculaire, et cet échange de matière peut être décrit par une cinétique du premier ordre :

$$\theta_{im} \frac{\partial c_{im,j}}{\partial t} = \alpha (c_{m,j} - c_{im,j}) \quad [38]$$

Le modèle MIM (Eq. 35 à 38) met en œuvre 3 paramètres : la dispersion dans l'eau mobile D_m , la fraction $f = \theta_m/\theta$ d'eau mobile et un coefficient d'échange α [T^{-1}]. Ces paramètres sont estimés en provoquant l'écoulement, à vitesse d'eau constante et uniforme, d'un traceur dans le sol soit dans des colonnes de laboratoire soit dans des lysimètres de terrain (Gaudet et al. 1977, Martins 1993, Martins and Mermoud 1999, Schoen et al. 1999).

4.2.2. Modélisation du transport de micropolluants en milieux poreux

4.2.2.1. Les concentrations dans les différentes phases

Dans l'étude du transfert de micropolluants dans les sols, on néglige généralement les quantités présentes dans la phase gazeuse. On considère alors uniquement les concentrations du polluant j dans la phase liquide (de masse m_j^e) dans le volume V_e par :

$$c_j = m_j^e / V_e \quad [39]$$

et les concentrations du polluant j , de masse m_j^s , dans (ou sur) la phase solide de masse M_s par :

$$s_j = m_j^s / M_s \quad [40]$$

4.2.2.2. Le transport de polluants dans les sols

La conservation de masse du polluant j dans l'EVR conduit à écrire, pour un transport mono-directionnel vertical :

$$\frac{\partial \theta \cdot c_j}{\partial t} + \rho_d \frac{\partial s_j}{\partial t} = - \frac{\partial J_j}{\partial z} - S_j \quad [41]$$

où J_j est le flux de polluant traversant l'EVR et S_j [$\text{ML}^{-3}\text{T}^{-1}$] est un terme source/puits, c'est-à-dire le taux de production ou consommation du polluant j (réaction chimique et/ou biotransformation).

Lorsque toute l'eau du sol participe à l'écoulement, la densité de flux massique de polluant [$\text{ML}^{-2}\text{T}^{-1}$] est classiquement décomposée en une partie convective et une partie dispersive, d'où :

$$J_j = q \cdot c_j - \theta \cdot D_j \frac{\partial c_j}{\partial z} \quad [42]$$

D_j est le coefficient de dispersion [L^2T^{-1}] du polluant j , prenant en compte la diffusion moléculaire (D_0) et le mélange mécanique (Bear 1991, Hillel 1998).

En l'absence de production ou de consommation et pour un écoulement d'eau uniforme et permanent (q et θ constants dans le temps et l'espace), la relation [41] s'écrit (modèle de convection-dispersion avec sorption) :

$$\frac{\partial c_j}{\partial t} + \frac{\rho_d}{\theta} \frac{\partial s_j}{\partial t} = D_j \cdot \frac{\partial^2 c_j}{\partial z^2} - v \frac{\partial c_j}{\partial z} \quad [43]$$

où la vitesse convective (ou de pore) v est donnée par :

$$v = \frac{q}{\theta} \quad [44]$$

Si toute l'eau ne participe pas à l'écoulement, et si on considère un polluant interactif (s_j non nulle dans l'équation [41]), il sera transporté par une eau séparée en deux phases, en contact réactionnel avec deux régions du sol (dites « dynamique » et « stagnante »). Si la fraction de la région solide en contact dynamique est f , la fraction stagnante est son complément $1-f$. Alors la conservation de la masse de polluant et l'échange entre fractions et régions s'écrivent (Gaudet et al. 1977, van Genuchten et al. 1989, Martins 1993, Martins and Mermoud 1999) :

$$\frac{\partial \theta_m \cdot c_{m,j}}{\partial t} + \frac{\partial \theta_{im} \cdot c_{im,j}}{\partial t} + \frac{\partial \rho_d \cdot f \cdot s_{m,j}}{\partial t} + \frac{\partial \rho_d \cdot (1-f) \cdot s_{im,j}}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial z} \left(D_m \cdot \theta_m \frac{\partial c_{m,j}}{\partial z} \right) - \frac{\partial q \cdot c_{m,j}}{\partial z} \quad [45]$$

$$\theta_{im} \cdot \frac{\partial c_{im,j}}{\partial t} + (1-f) \cdot \rho_d \cdot \frac{\partial s_{im,j}}{\partial t} = \alpha \cdot (c_{m,j} - c_{im,j}) \quad [46]$$

Les paramètres hydrodispersifs (D_m , f , α) ayant été déterminés à l'aide d'un traceur, il reste à identifier la fraction dynamique f et les relations $s_{m,j}(c_{m,j})$ et $s_{im,j}(c_{im,j})$.

Lorsqu'il y a plusieurs espèces chimiques en présence, la description précédente peut s'avérer insuffisante, notamment lorsque d'autres facteurs, tels que le pH ou l'existence de complexants ou d'autres polluants en compétition, deviennent importants. Dans ces cas, une modélisation de type géochimique est nécessaire avec résolution des réactions et équilibres chimiques comme par exemples les codes de calcul géochimique IMPACT (Jauzein et al. 1989) ou PhreeqC (Parkhurst and Appello, 1999).

La consommation par les plantes est bien évidemment un terme très important du bilan de masse des oligo-éléments, puisqu'elles peuvent altérer les minéraux des sols (e.g. Hinsinger et al. 2001) et donc modifier leur réactivité vis-à-vis des polluants ou même les libérer. Elle est généralement négligée

pour les sols contaminés (concentrations très importantes) en dehors des traitements par phytoremédiation, problème non traité ici, car on se focalise sur les biotransformations microbiennes.

Les équations [41] et [42] font ressortir l'importance, pour le transport d'un polluant, d'une bonne prédiction (ou évaluation) de la répartition spatio-temporelle de l'eau liquide et de son écoulement (θ , q). Pour ce faire, on évite au maximum de considérer les écoulements d'eau transitoires, non linéaires et difficiles à traiter, pour identifier les mécanismes chimiques. Il est préférable de se placer dans des conditions particulières visant à instaurer des transferts d'eau permanents et uniformes, par exemple en utilisant des colonnes de laboratoire ou des lysimètres sur le terrain. Les différents mécanismes physiques et chimiques sont alors identifiés pas à pas, par des approches expérimentales permettant de les découpler pour les étudier individuellement.

4.2.2.3. Les réactions et interactions chimiques

Pour une espèce chimique donnée, on distingue les réactions chimiques internes à une phase unique (réactions homogènes) de celles qui mettent en jeu plusieurs phases, notamment liquide et solide (réactions hétérogènes).

Si l'espèce chimique d'intérêt j est totalement définie par ses concentrations c_j et s_j , indépendamment des autres espèces chimiques, il est souvent possible d'établir une relation réversible entre c_j et s_j , appelée isotherme d'adsorption comme cela a été vu dans la 2^e section de ce mémoire. Bien qu'obtenue à l'équilibre, et donc ne renseignant pas sur la cinétique du processus de sorption, ces relations sont très commodées pour la modélisation et fournissent, sinon une image fiable du processus, au moins une bonne approximation dans la plupart des cas (pour les micropolluants cela est particulièrement vrai car les concentrations sont relativement faibles).

Les réactions d'adsorption dans les sols ont été présentées dans la section 2.2. La relation s_j (c_j) la plus simple valable pour les faibles concentrations de polluants (e.g. Martins and Mermoud 1998, Milfont et al. 2008) est la relation linéaire (Eq. 1). Sous l'hypothèse d'une adsorption de ce type, l'équation [43] devient :

$$R \frac{\partial c_j}{\partial t} = D_j \frac{\partial^2 c_j}{\partial z^2} - v \frac{\partial c_j}{\partial z} \quad [47]$$

avec le facteur de retard :

$$R = 1 + \frac{\rho_d K_d}{\theta} \quad [48]$$

Ainsi on constate que le sol a un effet chromatographique sur l'élément chimique adsorbé j , qui est séparé d'un traceur jt (s_{jt} toujours nulle) et dont les temps de séjour (ts_j et ts_{jt}) dans le sol sont dans le rapport R (Martins 1993, Gaudet and Vauclin 2005) :

$$\frac{ts_j}{ts_{jt}} = R \quad [49]$$

Si l'interaction (généralement de surface) entre l'élément j et le solide n'est pas instantanée, on considère souvent une cinétique du premier ordre (Eq. 3). Dans ce cas, le temps de séjour du polluant interactif j est toujours déduit du temps de séjour d'un traceur par la relation [49] avec la même définition du facteur de retard [48]. Par contre, l'étalement spatio-temporel (variance) du polluant j dépend de la dispersion, du facteur de retard et de la cinétique (Gaudet and Vauclin 2005).

Si l'adsorption du micropolluant suit un processus non linéaire, c'est-à-dire lorsque par exemple le nombre de sites d'interaction sur la surface du solide est fini, l'adsorption tend vers une limite supérieure (Eqs. 5 et 6). Pour cette dernière, selon la valeur de β (supérieure ou inférieure à 1), la concavité de l'isotherme est différente et le transfert dans le sol en est affecté, avec notamment un effet sur la forme des courbes de percée (Schweich and Sardin 1981, Martins 1993, Hinz et al. 1994).

4.2.2.4 Biotransformations dans la phase liquide

La modélisation des biotransformations de micropolluants dans les sols a été présentée dans la section 3.2. Le cas le plus simple correspond à une consommation (ou production) où le taux de transformation du polluant j , uniquement dû à la biotransformation, est proportionnel à sa concentration (par exemple dans la phase liquide) (Eq. 14). Cette équation est alors insérée dans le terme source-puits du modèle de convection-dispersion avec sorption (Eq. 41). Ainsi en décomposant la dégradation des micropolluants dans les deux fractions d'eau mobile et immobile, on obtient :

$$(\theta_m + f\rho_d K) \frac{\partial C_m}{\partial t} + (\theta_{im} + (1-f)\rho_d K) \frac{\partial C_{im}}{\partial t} = \theta_m D \frac{\partial^2 C_m}{\partial z^2} - \theta_m V_m \frac{\partial C_m}{\partial z} - \theta_m \mu C_m - \theta_{im} \mu C_{im} \quad [50]$$

4.2.2.5 Transport de bactéries dans les sols

La modélisation que j'ai adoptée pour décrire le transport de bactéries dans les sols est basée sur l'équation générale de convection-dispersion (Eq. 51) largement utilisée pour ce genre d'études (Compère et al. 2001, Bradford et al. 2005, Foppen et al. 2007, Tufenkji 2007, Guiné et al. In prep.) :

$$\frac{\partial \theta.C}{\partial t} = - \frac{\partial J}{\partial z} - \frac{\partial \rho.S_{ads}}{\partial t} - \frac{\partial \rho.S_{str}}{\partial t} \quad [51]$$

où C [$M L^{-3}$] est la concentration en bactéries dans la phase aqueuse, J [$M L^{-2} T^{-1}$] est le flux total de bactéries (somme des flux convectif et dispersif), S_{ads} [$N M^{-1}$] est la concentration en bactéries adsorbées sur la phase solide et S_{str} [$N M^{-1}$] est la concentration en bactéries retenues sur la phase solide de manière irréversible, par le phénomène de « straining » (Bradford et al. 2005, Foppen 2007).

Ainsi, les interactions des cellules bactériennes avec les surfaces solides sont représentées par deux termes source-puits permettant de considérer soit les interactions réversibles (adsorption : attachement - détachement) soit les interactions irréversibles (straining : disparition définitive des bactéries de la solution par adsorption irréversible sur la matrice poreuse ou mortalité bactérienne).

Pour le premier terme, l'adsorption des cellules bactériennes peut être considérée linéaire (Eq. 1) ou non linéaire de type Langmuir ou Freundlich (Eq. 5 et 6).

$$S_{ads} = \frac{k_{ads} C^n}{1 + \eta C^n} \quad [52]$$

où k_{ads} est le coefficient de distribution solide/liquide des bactéries, et n et η sont deux coefficients empiriques.

Les courbes de transfert ou d'élution sont alors simplement retardées par rapport à un traceur de l'eau.

Si l'adsorption des bactéries est contrôlée par une cinétique, cela n'a pas d'effet sur leur facteur de retard mais aura une incidence sur la symétrie de la courbe d'élution des bactéries, on utilise alors :

$$\frac{\partial S_{ads}}{\partial t} = a \left(\frac{k_{ads} C^n}{1 + \eta C^n} - S_{ads} \right) \quad [53]$$

Pour le terme de consommation irréversible de l'équation 51, on peut définir deux types de consommation (disparition) des cellules bactériennes :

1/ une consommation d'ordre 0 : un nombre de cellules bactériennes constant disparaît de la solution, la courbe de percée est tronquée de la même façon à la montée, au niveau du plateau et sur la trainée. Cela peut également expliquer une adsorption irréversible sur un nombre de sites limité.

2/ une consommation d'ordre 1 : le nombre de cellules bactériennes qui disparaît varie avec la concentration, la courbe de percée est essentiellement affectée au niveau du plateau. Cela permet d'expliquer la disparition des bactéries à la fois par une certaine mortalité cellulaire et une adsorption irréversible sur la matrice poreuse.

Ce modèle a été compilé sous HYDRUS-1D (Simunek et al. 2005), afin de résoudre numériquement ces équations en utilisant des éléments finis linéaires de type Galerkin (Guiné et al. In prep.).

4.2.2.6. Identification des mécanismes de transfert en systèmes contrôlés

Comme indiqué dans la figure 2, une démarche pertinente pour étudier le comportement de micropolluants dans les sols consiste à effectuer des réductions d'échelle successives permettant de passer de l'échelle du bassin versant, à la parcelle puis aux colonnes de laboratoire. L'avantage de ces dernières est qu'elles permettent, après l'isolement d'un volume de sol et son confinement en colonne, et en contrôlant strictement les conditions expérimentales (température, flux de masse latéraux nuls, conditions initiales et aux limites), de découpler les processus se déroulant dans le sol (Figure 2), et ainsi d'identifier les mécanismes prépondérants.

Ceci constitue la démarche générale que j'ai privilégiée pour toutes mes recherches sur le transport réactif de polluants ou de colloïdes biotiques ou abiotiques (e.g. Moser-Boroumand et al. 1997, Martins and Mermoud 1999, Guiné et al. 2003, Guiné et al. In prep.) schématisée dans la figure 42.

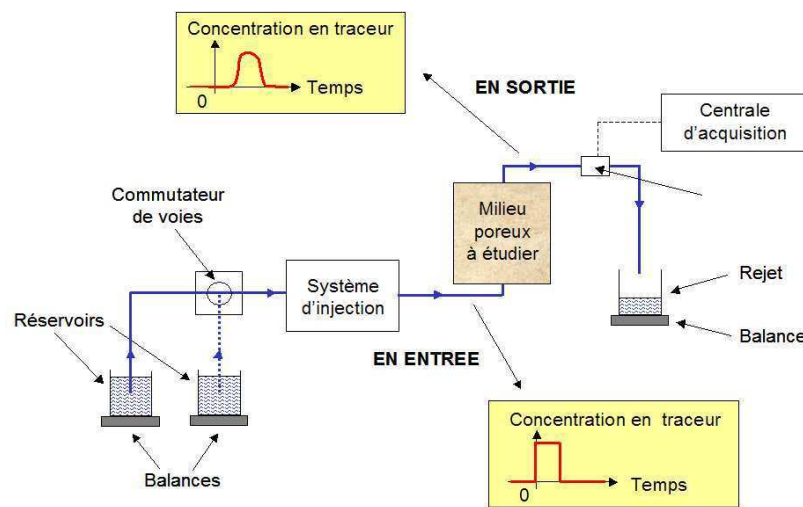


Figure 42 : Schéma d'un dispositif classique de transfert en colonnes.

Si on impose des impulsions massiques à l'entrée du système (créneau de concentration bref à la surface du sol), la réponse en concentration à la sortie est la réponse impulsionnelle. Pour identifier avec la précision maximale les mécanismes prépondérants influant sur le transport de micropolluants, on impose des écoulements d'eau permanents et uniformes (la teneur volumique en eau et la vitesse de Darcy sont maintenues constantes dans l'espace et le temps) par des dispositifs appropriés.

Courbes de percée et calculs des moments temporels

Une courbe de percée est la réponse en concentration à une sollicitation connue telle que : impulsion de Dirac, créneau de concentration ou échelon de concentration. La courbe de percée expérimentale $c_j(t)$ est analysée à partir du calcul des moments temporels d'ordre N (Gaudet and Vaucelin 2005) :

$$M_j^N = \int_0^{\infty} t^N \cdot c_j \cdot dt \quad [54]$$

Le moment d'ordre 0 de l'excitation $e_j(t)$ est proportionnel à la masse injectée et s'écrit :

$$M_j^{0inj} = \int_0^{\infty} e_j(t) \cdot dt \quad [55]$$

Il permet de calculer le bilan de masse (BM) relatif au soluté j, à partir de la courbe de percée :

$$BM = \frac{M_j^0}{M_j^{0inj}} \quad [56]$$

où M_j^0 est proportionnel à la masse de soluté recueillie en sortie de la colonne de sol. Le temps de séjour, ts_j , du soluté j est obtenu à partir du moment d'ordre un :

$$ts_j = E_j - E_j^{inj} \quad [57]$$

où :

$$E_j = \frac{M_j^1}{M_j^0} \quad \text{et} \quad E_j^{inj} = \frac{M_j^{1inj}}{M_j^{0inj}} \quad [58]$$

La variance σ^2 de la courbe de percée, est donnée par :

$$\sigma_j^2 = \frac{M_j^2}{M_j^{inj2}} - [E_j]^2 \quad [59]$$

qui conduit à :

$$Var_j = \sigma_j^2 - \sigma_j^{inj2} \quad [60]$$

4.3. Etude du transfert réactif de micropolluants dans les sols

Compte tenu du nombre important de coefficients de transfert qui peuvent intervenir dans la modélisation, il est peu efficace et peu précis de les identifier sur une seule courbe de percée d'une seule expérience. On utilise donc une approche pas à pas, en identifiant successivement les mécanismes et les coefficients. Une description détaillée de cette démarche est donnée par Martins (1993) ou Gaudet and Vauclin (2005).

Ainsi, l'approche de dynamique des systèmes appliquée de manière raisonnée et précise, permet, en un nombre d'essais limités, de caractériser rapidement les processus prépondérants comme, par exemple, les processus hydrodynamiques (traçage de l'eau), les processus d'interaction (variation de concentration en polluant) ou les processus de biotransformations pendant l'écoulement (suppression de la composante biologique par stérilisation) au cours de mes travaux de recherche pluridisciplinaires

Je présente succinctement ci-après ces 3 étapes essentielles pour ce type d'étude avec quelques exemples de résultats représentatifs que j'ai obtenus avec divers solutés, polluants ou traceurs.

4.3.1. Caractérisation des processus hydrodynamiques

L'étude des courbes de percée de traceurs de l'écoulement de l'eau permet de préciser le fonctionnement hydrique du sol étudié : quantité d'eau participant à l'écoulement, fraction immobile éventuelle, importance de la dispersion, présence et importance de cinétique physique... Un traceur de l'eau est ici défini comme un soluté non soumis à des réactions chimiques et qui n'interagit pas avec la phase solide du sol.

Deux exemples, développés dans Martins (1993), concernent le transfert d'un traceur anionique, l'ion chlorure. Ce type d'essai en colonnes soumises à des écoulements d'eau contrôlés, a permis de caractériser les paramètres hydrodynamiques du sable de Fontainebleau et d'un sol cultivé LCSA saturés en eau (Figure 43), du même sable saturé ou non en eau (Figure 44), du sable saturé en eau à différents flux d'eau (caractérisation de la dispersivité) (Figure 45).

La simulation a été faite en résolvant le système [35], [36], [37], assorti des conditions initiales et aux limites adéquates. Les résultats sont présentés en variables adimensionnelles, C/Co en fonction de V/Vo , où Co est la concentration du créneau d'entrée, Vo le volume d'eau contenu dans la colonne et V le volume d'eau écoulé depuis le temps $t = 0$, correspondant au début du créneau injecté.

Ainsi dans les figures 43 et 44, on voit que la texture et la structure du milieu poreux ainsi que la vitesse de l'écoulement modifie largement la dispersion hydrodynamique du traceur (ou du polluant).

Dans le sable, l'écoulement observé (courbe de percée) suit quasiment un écoulement piston, tandis que dans le sol naturel, la courbe du traceur est très étalée indiquant un fort effet dispersif du milieu qui a pour effet de réduire la concentration du traceur (ou du polluant) en sortie de colonne.

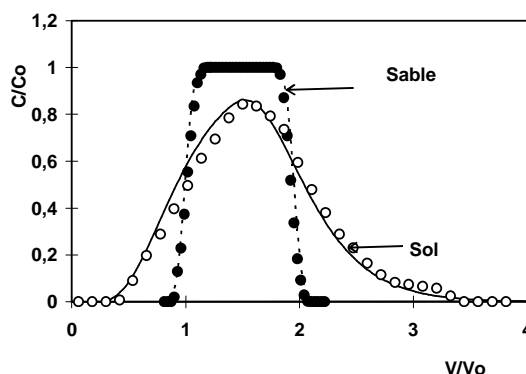


Figure 43 : Courbes d'élution du traceur de l'eau (ion Cl^-) en colonnes de sable de Fontainebleau et de sol LCSA saturés en eau. (Martins 1993).

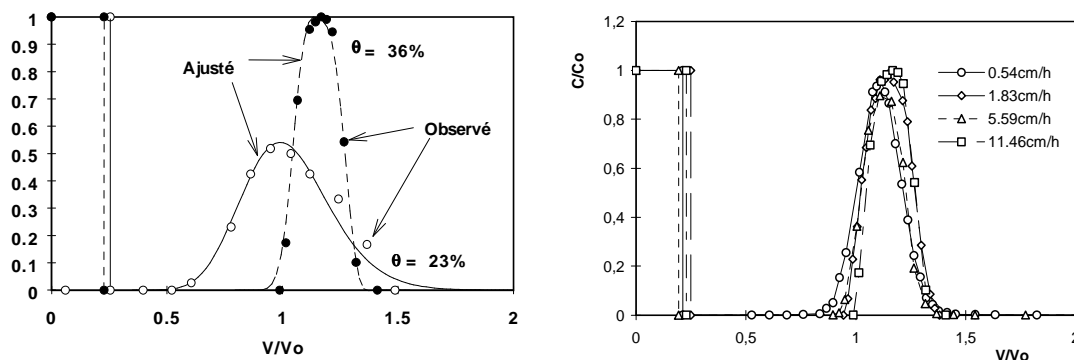


Figure 44 : Effet de la désaturation en eau (gauche) et de la vitesse d'écoulement (droite) sur la courbe d'élution du traceur (Cl^-) en colonnes de sable de Fontainebleau (Martins 1993)

Dans la figure 44, on voit que la désaturation du milieu poreux provoque une augmentation de la dispersion du traceur (étalement de la courbe de percée) et une sortie plus rapide (toute l'eau ne participe pas à l'écoulement). Il a en effet été montré que le principal effet de la désaturation des milieux poreux est d'immobiliser une partie de l'eau présente (piégeage par bulles d'air, interfaces eau-air...) (Gaudet et al. 1977, Monrozier et al. 1993, Suarez and Simunek 1999), qui ne participe ainsi plus à l'écoulement.

On voit dans ces divers exemples que la modélisation appliquée permet de représenter correctement les observations expérimentales dans les différentes situations étudiées en accord avec d'autres études comme celles de Suarez and Simunek (1999), de Gabriel (1998), Schoen et al. (1999) ou Martyns and Mermoud (1999). Les traceurs servent ainsi de base à l'identification des mécanismes intervenant dans le transfert de molécules interactives ou transformées, notamment par le calcul du facteur de retard, R (Eq. 48), qui est déterminé par comparaison avec le transfert du traceur de l'eau, le plus souvent un anion (Cl^- , Br^- ...) et plus rarement un isotope (tritium ou ^{18}O).

4.3.2. Etude du transfert réactif des micropolluants en colonnes de sols

Deux approches sont classiquement utilisées pour caractériser la fixation des micropolluants sur un sol (équilibres et cinétiques) : l'établissement d'isothermes d'adsorption en réacteurs fermés (essais batch, section 2.3) et l'analyse des courbes de percée provenant de transferts dans des colonnes de laboratoire. La relation entre la forme des isothermes d'adsorption et celle des courbes de percée est très bien documentée dans Schweich and Sardin (1981) ou Hinz et al. (1994).

4.3.2.1. Effet de la concentration en micropolluant

Pour les micropolluants (présents sous forme de traces), on admet souvent que les isothermes de fixation sont linéaires, mais ce n'est pas toujours vrai. En cas d'isotherme linéaire, les courbes de percée adimensionnelles d'un même polluant à différentes concentrations apparaîtront superposées

(K_D constant). En revanche, la non-linéarité de l'isotherme de fixation induit un transfert réactif du polluant variable pour des concentrations différentes (variation de la pente de l'isotherme ou K_D). Ainsi, en faisant des essais de transfert en colonnes de sols à différentes concentrations du polluant étudié, on peut déterminer le facteur de retard (*i.e.* le coefficient de distribution du polluant en écoulement) et remonter ainsi à la relation $S_f(C_f)$ (Eq. 6).

Un exemple présenté ci-après concerne le transfert du pentachlorophénol en colonnes de sable de Fontainebleau et de sol de La Côte St André, LCSA (Isère) (Figure 45). Dans le sable de Fontainebleau, l'adsorption du pentachlorophénol est faible et linéaire. De ce fait, le coefficient de distribution K_D est constant, et il n'y a donc pas d'effet sur les courbes de percée aux différentes concentrations : les courbes sont superposées.

Dans le sol LCSA, le facteur de retard R , mesuré par rapport au transfert du traceur (Eq.49) est ici compris entre 5 et 16, pour des concentrations de 100 et 50 mg L⁻¹, respectivement. Dans ce sol, l'isotherme est fortement non linéaire (Martins 1993) et correctement représentée par le modèle de Freundlich (Eq.6) avec un paramètre de forme β , supérieur à 1 (forme convexe), ce qui se traduit sur la courbe de percée par une sortie plus rapide du pentachlorophénol lorsqu'il est injecté à forte concentration. Ceci s'explique par une rapide saturation des sites de sorption à forte concentration, les molécules de pentachlorophénol ne pouvant plus s'adsorber sont rapidement transportées vers le bas. Ce phénomène a déjà été observé pour de nombreux autres polluants comme par exemple l'uranyle (Gabriel 1998).

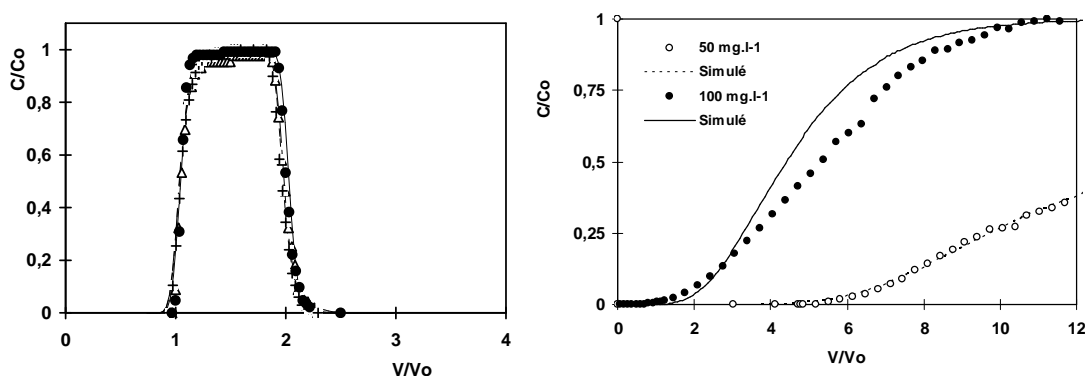


Figure 45 : Effet de la concentration d'entrée en pentachlorophénol sur les courbes de percée à flux d'eau constant, en colonnes de sable de Fontainebleau (gauche) (isotherme de sorption linéaire) et de sol LCSA (Droite) (isotherme de sorption non-linéaire) saturés en eau. Les courbes de percée (points) ont été modélisées (lignes) en résolvant numériquement le modèle de convection-dispersion avec isotherme de Freundlich et cinétique de réaction du premier ordre. (Martins 1993).

4.3.2.2. Effet de la vitesse d'écoulement

Généralement, l'effet de la vitesse d'écoulement sur le transfert réactif de micropolluants est de modifier le temps de séjour du composé dans le sol et donc de faire varier les temps de contacts, donc les échanges avec la matrice solide ou la biotransformation du soluté. Ainsi, en faisant varier la vitesse d'écoulement en colonnes de sol, tout paramètre constant par ailleurs, permet d'établir d'éventuelles cinétiques de sorption (section 2.2.2) ou de biotransformation (section 3.2) si les temps de séjours sont longs ou si la biotransformation est très rapide.

Au cours de mes travaux, j'ai été amené à étudier les cinétiques de sorption et de transformation en conditions hydrodynamiques de différents micropolluants. Une partie des résultats obtenus est présentée dans la figure 46 pour le PCP, pour des débits d'eau de 4 et 40 ml h⁻¹. Les différences de comportement observées se situent essentiellement dans la hauteur des pics et les bilans de masse qui passent d'environ 87% en moyenne pour le débit le plus élevé à une moyenne de 48% pour le débit le plus faible, pour lequel les cinétiques de diffusion ou de réaction sont moins limitantes.

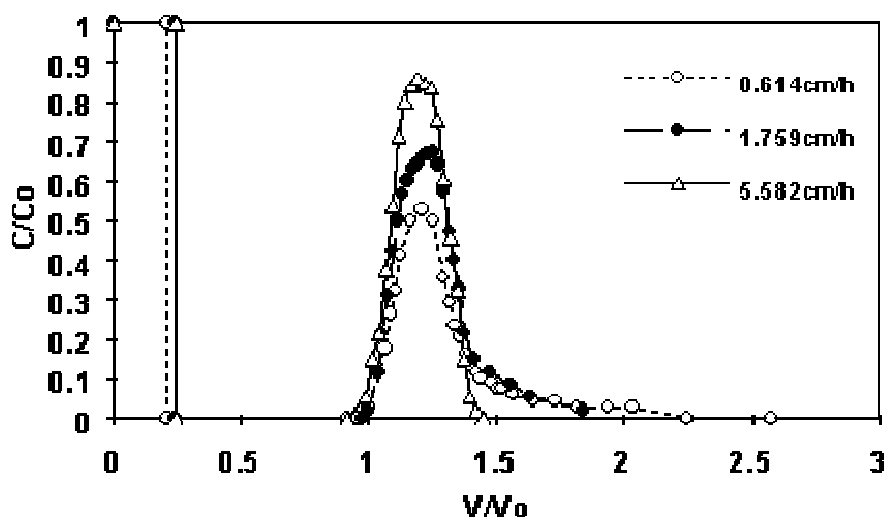


Figure 46 : Effet de la vitesse d'écoulement sur la courbe de percée du Pentachlorophénol en colonne de sable de Fontainebleau à concentration constante (10 mg L^{-1}). (Martins 1993).

Ainsi, en faisant varier la vitesse de l'écoulement, on peut observer plusieurs effets sur les courbes :

- Les courbes sont légèrement retardées par rapport à un traceur (elle ne passent pas par le point 1-0,5 caractéristique d'un traceur), indiquant des interactions faibles et réversibles,
- Le bilan de masse diminue avec la vitesse d'écoulement indiquant l'apparition d'interactions "irréversibles" dépendantes de la vitesse d'écoulement,
- Une trainée apparaît en fin de courbe de percée, significative d'une restitution lente du soluté vers l'eau mobile.

Ces résultats indiquent l'existence d'une cinétique de sorption contrôlant les mécanismes d'interaction du PCP avec les surfaces et induisant une restitution lente du polluant dans l'effluent (trainée). On voit également apparaître deux types d'interactions de surface dont un mécanisme irréversible, réduisant le bilan de masse.

4.3.2.3. Effet du pH de la solution du sol

Dans la section 2.3.4, nous avons vu que le pH pouvait s'avérer un facteur particulièrement important pour le contrôle des interactions de surface des micropolluants dans les sols, et notamment les polluants organiques ionisables ou les polluants inorganiques. Logiquement ce facteur affecte le transfert réactif de ces mêmes polluants dans les sols.

C'est donc afin de mieux comprendre cet effet que je me suis intéressé au pH du sol dans le cadre de l'étude du transfert réactif d'herbicides de la famille des sulfonilurées (Martins and Mermoud 1999), et de la famille des dinitrophénols, et en particulier le DNOC, ainsi que du pentachlorophénol (PCP), en colonnes de sable de Fontainebleau.

Dans mes travaux, j'ai fait varier le pH de la solution injectée entre pH 4 et 8 environ. Au pH le plus bas (pH 4), nous n'avons pas observé de percée du PCP (Figure 47) avec une complète rétention du polluant dans la matrice de sable pourtant peu réactive, indiquant probablement un processus de précipitation. A pH 8 au contraire, nous observons un taux de restitution de 100%, indiquant l'absence d'interactions irréversibles. Au pH intermédiaire, la forme de la courbe de percée ainsi que le bilan de masse de 80%, indiquent la coexistence des deux mécanismes de rétention, impactant à la fois la forme et la surface des courbes de percées du PCP, en accord avec ce qui avait été prédit sur la base des isothermes de sorption à différents pH dans un sol naturel (Figure 15).

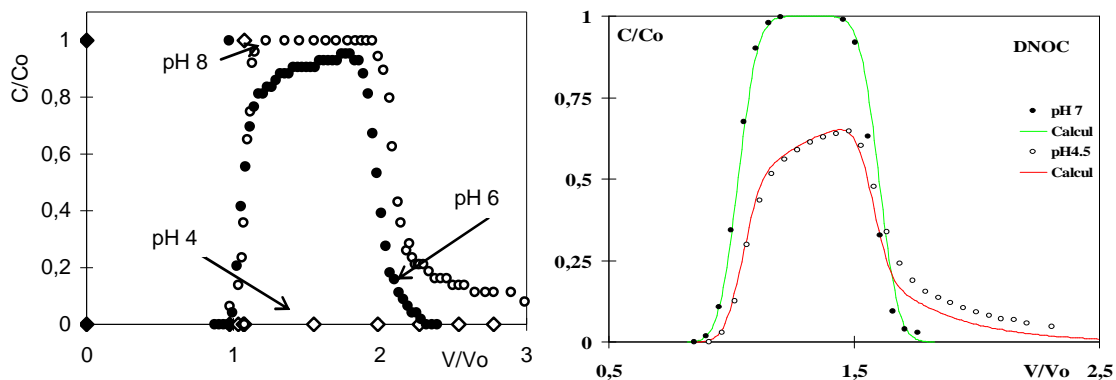


Figure 47 : Effet du pH sur la courbe de restitution du PCP (Martins 1993).et du DNOC en colonne de sable de Fontainebleau saturé en eau à vitesse constante.

Pour le DNOC, qui est également une molécule ionisable, on observe un comportement similaire au deux pH étudiés, avec l'apparition d'une trainée pour la courbe à pH 4,5, indiquant un relargage progressif des molécules d'herbicide précipitées, trainée que l'on n'observe pas à pH 7 (courbe de percée parfaitement symétrique), pour lequel la molécule est entièrement ionisée et donc très hydrosoluble.

Ces résultats confirment que le pH du sol, dans lequel arrivent les polluants, joue un rôle prépondérant dans le comportement de micropolluants organiques en milieux poreux, en contrôlant notamment l'apparition de processus d'interactions irréversibles, voire la précipitation des micropolluants. Ces dernières se retrouvent alors piégées dans le milieu poreux et peuvent ensuite être remobilisées de manière difficilement prévisible. La connaissance du pH du sol est donc un préalable indispensable à toute modélisation du transfert des polluants.

4.3.2.4. Effet de la désaturation en eau

Comme nous l'avons vu pour les traceurs (section 4.3.1), la désaturation des sols entraîne l'apparition d'une troisième phase dans le milieu poreux, une phase gazeuse, et surtout l'apparition de nouvelles interfaces eau-air et sol-air, pouvant modifier le comportement d'un micropolluant. L'effet principal de cette troisième phase, hydrophobe, est de favoriser la rétention de composés ou métaux hydrophobes au niveau de ces interfaces. Ce phénomène est très bien connu pour la rétention des composés pétroliers par exemple ou des HAP, très hydrophobes.

a/ Cas des polluants organiques

J'ai étudié ces aspects notamment avec le pentachlorophénol, comme polluant modèle. Après avoir caractérisé les propriétés hydrodynamiques du sable de Fontainebleau (Martins 1993) décrites dans la section 4.2.1.2 : courbes caractéristiques $h(\theta)$ et $K(\theta)$, j'ai pu effectuer des essais de transfert du PCP en conditions de saturation partielle en eau dans les mêmes conditions que le traceur d'écoulement (CI), moyennant l'établissement de conditions d'écoulement permanent d'eau à différentes teneurs en eau (mesurées par absorption gammamétrique, Martins 1993). Les résultats obtenus sont très reproductibles si l'on tient compte des variations de distribution de l'eau dans la colonne. Les variations des profils de teneur en eau ont provoqué, comme l'ont souligné Gaudet et al. (1977) une variation spatiale de la fraction d'eau mobile qui peut influencer la cinétique d'échange du PCP.

Les courbes d'élution du PCP observées à saturation (36%) et à des teneurs en eau de 28% et 23% (Figure 48) montrent que la diminution de la teneur en eau du milieu poreux induit une sortie de plus en plus rapide du PCP, provoquée par une diminution de la fraction d'eau mobile (Tableau 8). Ainsi le polluant ne « voit » pas toute l'eau contenue dans le milieu mais seulement la portion la plus mobile. On note également un certain retard du PCP par rapport au traceur de l'eau, indiquant l'existence d'interactions faibles avec le sable qu'on retrouve pour tous les niveaux de saturation en eau étudiés.

Par ailleurs, on peut observer un étalement de plus en plus grand de la courbe de restitution, ce qui signifie que le milieu est de plus en plus dispersif (lié à la présence d'air).

On observe également l'apparition d'une dissymétrie de la courbe qui se traduit par une trainée de plus en plus prononcée caractéristique d'un échange important entre les deux fractions d'eau.

Ces observations visuelles sont confirmées par les paramètres hydrodynamiques ajustés sur les courbes (Tableau 8) où l'on observe en particulier que le coefficient de dispersion augmente avec la désaturation, et que θ_m/θ diminue.

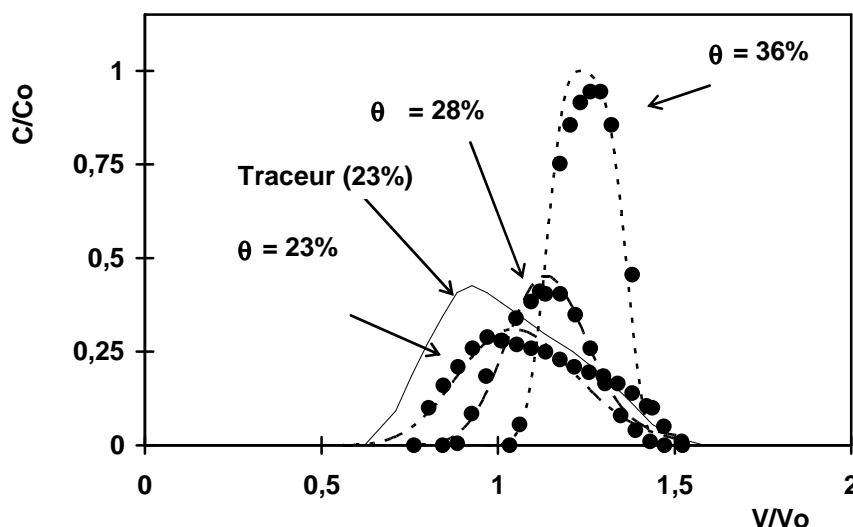


Figure 48 : Gauche : Effet de la désaturation sur la courbe de percée du PCP (10 mg.l^{-1}) en colonne de sable (Martins 1993).

Tableau 8. Ajustement des paramètres du modèle de convection dispersion à deux sites de sorption et dégradation de premier ordre sur les courbes de restitution du PCP à différents teneurs en eau (Martins 1993).

$\theta \text{ (cm}^3\cdot\text{cm}^{-3}\text{)}$	0,36	0,28	0,23
$v \text{ (cm.h}^{-1}\text{)}$	11,3	24,0	18,0
Bilan de masse (%)	100	75	70
Pulse	0,225	0,167	0,207
Péclet	1355	200	70
R	1,05	1,05	1,15
β	0,986	0,95	0,85
ω	20	0,3	0,1
$D \text{ (cm}^2\cdot\text{h}^{-1}\text{)}$	0,36	4,3	9,25
$K \text{ (cm}^3\cdot\text{g}^{-1}\text{)}$	0,01	0,008	0,02
$\theta_m \text{ (cm}^3\cdot\text{cm}^{-3}\text{)}$	0,357	0,266	0,196
f'	0,87	0,95	0,84
α	1,85	0,056	0,0115

b/ Cas des polluants inorganiques

J'ai également étudié l'effet de la désaturation des sols sur la mobilisation de métaux lourds contenus dans un sol urbain contaminé (Grisel 2006) dans le cadre du projet ECCO PNRH EMMAUS. Pour cela, des essais de lixiviation en colonnes d'un sol de surface de bassin d'infiltration pluvial ont été effectués à différentes teneurs en eau initiales. Dans ce genre de structure urbaine, l'effet humidité initiale des sols est un paramètre important à étudier car les pluies d'orages, chargées en contaminants métalliques, organiques ou biologiques, peuvent arriver aussi bien sur des sols secs que sur des sols saturés en eau. La condition initiale d'humidité peut donc s'avérer cruciale en terme de transfert réactif des polluants véhiculés par l'eau de pluie. Ainsi, lors de ces essais de lixiviation, j'ai pu montrer que plus le sol était initialement sec, plus la migration de polluants contenus dans le sol ou transportés dans l'eau était importante. Ce résultat a été observé pour les métaux lourds (Figure 49) comme pour les argiles et les microorganismes indigènes du sol ou charriés par l'eau de pluie (résultats non présentés), ainsi que pour le carbone organique dissout (Grisel 2006).

Ces résultats sur l'effet de l'humidité initiale du sol montrent que le transport de polluants métalliques est parfaitement corrélé à la mobilisation accrue à faible humidité à la fois de microparticules

(biotiques et abiotiques) et de matière organique dissoute (MOD). Ceci indique que dans ce type de sol, le transport de micropolluants sous forme complexée à la MOD ou sorbée sur les colloïdes est prépondérant en conditions de faible humidité, alors que sur sol humide, le transport dissout est dominant. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus avec le cuivre dans le cadre du Master de Simon Alonzo (Alonzo 2005), qui présente le même comportement dans un sol viticole.

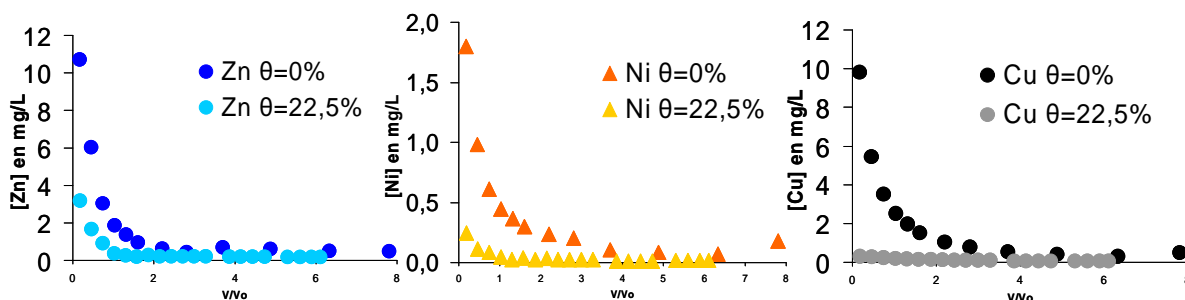


Figure 49 : Effet de l'humidité initiale sur la lixiviation de métaux lourds d'un sol urbain (Grisel 2006).

4.3.2.4 Effet de l'adsorption

L'étude du transfert réactif de polluants organiques présentant des valeurs de K_D différentes a été étudiée en colonnes de sol alluvial prélevé sur le site de Charrat (CH) et saturé en eau.

Les micropolluants modèles étudiés sont les 4 molécules de dinitrophénols présentées dans la figure (18) et dont les caractéristiques de sorption ont été déterminées en essais batchs et présentées dans la figure 19. Le transfert réactif de ces 4 herbicides utilisés en solution mono-composé est présenté dans la figure 50 dont les courbes de percée ont été obtenues en colonnes de sol stérilisé aux rayons gamma (30KGrays). Comme on pouvait le penser sur la base des valeurs de K_D déterminées précédemment, le transfert réactif de ces 4 composés est directement proportionnel à leur K_D , le 2,4DNP étant le plus mobile ($R=1,3$) et le dinoterb le moins mobile ($R=2,9$). Ces résultats indiquent que dans le sol stérilisé, la sorption des polluants est le processus qui contrôle le transfert réactif avec l'hydrodynamique (transfert des molécules avec l'eau mobile du sol).

On note également une différence dans les bilans de masse de ces 4 composés, les deux herbicides les plus hydrophobes (dinosèbe et dinoterb) présentant à la fois des interactions réversibles bien prises en compte par le facteur de retard, et des interactions irréversibles que le modèle a plus de mal à représenter. Ainsi, on peut voir dans la figure 50 que les prédictions de transfert réactif de ces 4 herbicides (sur la base des paramètres K_D mesurés à l'équilibre) ne sont valables que pour les molécules les plus hydrosolubles (K_D les plus faibles) alors que pour les deux autres, la modélisation surestime à la fois leur facteur de retard et leur bilan de masse. Ainsi, en conditions hydrodynamiques, des processus, inexistants en batch, apparaissent (cinétiques de sorption, interactions irréversibles...) qui s'avèrent particulièrement importants pour les molécules les plus réactives avec les constituants des sols. Un effort expérimental et de modélisation doit donc être mené pour améliorer la prédiction du devenir de ce type de polluants en conditions naturelles où les équilibres sont assez rares.

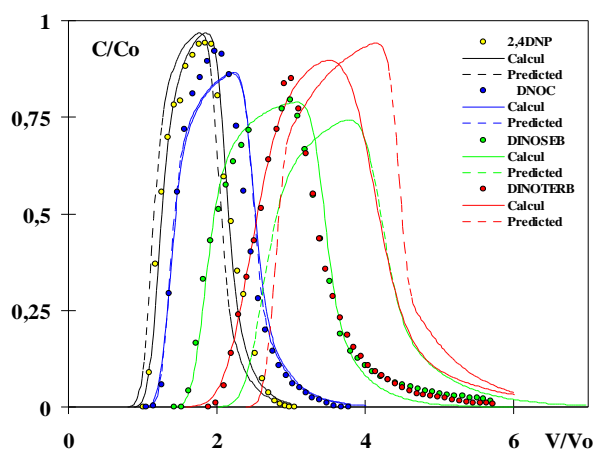


Figure 50 : Courbes de percée de 4 dinitrophénols en colonne de sol alluvial stérile saturé en eau. Les lignes représentent les courbes de percées ajustées (—) aux points expérimentaux ou prédites (----) sur la base des valeurs de K_D mesurées en solutions mono-composés, présentées dans la figure 18.

Un deuxième exemple de transfert réactif d'un composé organique en sol naturel concerne le pentachlorophénol pour lequel des essais de transfert ont également été menés dans le sol de La Côte St André stérilisé aux rayons gamma (Figure 51).

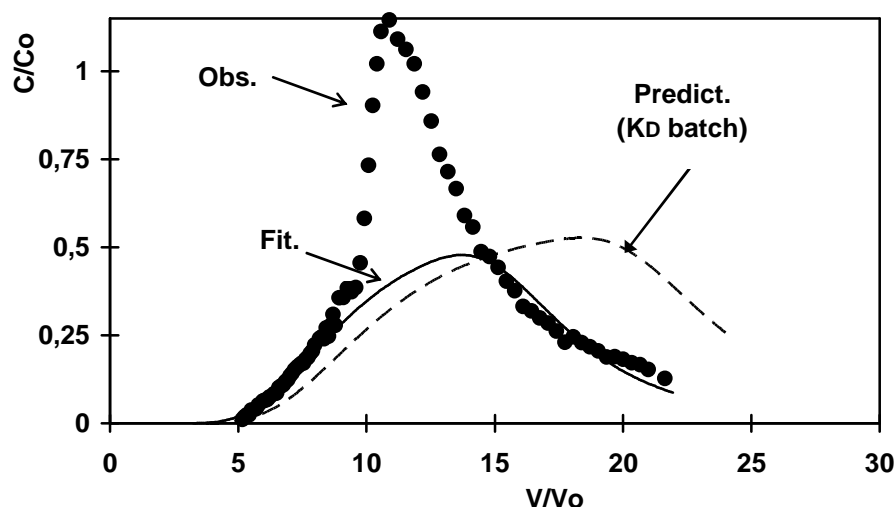


Figure 51 : Courbe de restitution du Pentachlorophénol (PCP) dans le sol LCSA stérile. La courbe de percée a été ajustée à l'aide du modèle de convection dispersion avec sorption (réversible et irréversible) ou prédite à l'aide du K_D mesuré en batch. (Martins 1993)

Comme pour les dinitrophénols, on note une différence importante entre la courbe ajustée avec le modèle de convection dispersion et celle prédite avec ce modèle sur la base du K_D mesuré en batch. Ceci confirme que malgré sa simplicité d'utilisation, le concept du K_D ne permet pas de prédire correctement des processus complexes observés en conditions d'écoulement pour lesquelles les mécanismes sont souvent contrôlés par des cinétiques physiques ou chimiques.

Dans la figure 51, on note également l'apparition d'un autre processus qui semble très important et que le modèle ne prédit absolument pas. En effet, après 9 V_p , lors de l'arrêt de l'injection du créneau de PCP dans la colonne et son remplacement par de l'eau pure (pluie), on observe une montée très brusque de la concentration en PCP qui va même au-delà de la concentration d'entrée. Ce processus correspond au relargage du pentachlorophénol immobilisé sur des particules (colloïdes) mobilisées par le changement de force ionique provoqué par la fin d'injection du créneau de PCP (remplacé par de l'eau pure). Ce processus de transport facilité par les particules mobilisables semble assez important pour ce type de molécule très réactive ($R > 10$) et a été observé, depuis, pour d'autres micropolluants, notamment métalliques (Guiné et al. 2003), résultats présentés dans la section 4.2.3.6

4.3.2.5 Effet de la biotransformation

Dans les sols naturels, lors du transfert hydrodynamique de micropolluants, plusieurs processus peuvent intervenir simultanément (Brusseau et al. 1992, 1999, Hinz et al. 1998, Martins and Mermoud 1999). On vient de voir que la sorption représente un des processus les plus importants. La biotransformation est également un processus majeur dont l'effet principal est la réduction des concentrations en polluants observées en sortie de colonnes, dans les effluents. Ce processus est directement lié à l'activité biologique du sol (composante principale du pouvoir épurateur du sol), notamment l'activité de dégradation microbienne spécifique de chaque polluant.

J'ai mené diverses études sur la biotransformation des micropolluants au cours de leur transfert en colonnes de sols, et en particulier des études sur des micropolluants organiques comme le PCP (Martins 1993), les dinitrophénols (Martins and Mermoud 1998) ou encore le rimsulfuron (Martins and Mermoud 1999), une sulfonilurée de dernière génération.

Chaque étude étant spécifique, cela m'a permis d'aborder séparément différents aspects des processus de biotransformation. Ainsi, avec le rimsulfuron, qui est transformé d'abord par hydrolyse

chimique puis par voie biologique, j'ai pu étudier l'effet de la dégradation chimique au cours du transfert en colonnes de sol alluvial (Figure 52). Avec les dinitrophénols j'ai pu évaluer les effets de toxicité croisée sur la biotransformation de ces quatre herbicides par des essais de transfert réactif de mono- et multi-solutés (Figure 53). Avec le pentachlorophénol, j'ai pu évaluer l'effet de l'introduction d'une population bactérienne adaptée à sa dégradation en colonne de sol LCSA (Figure 54).

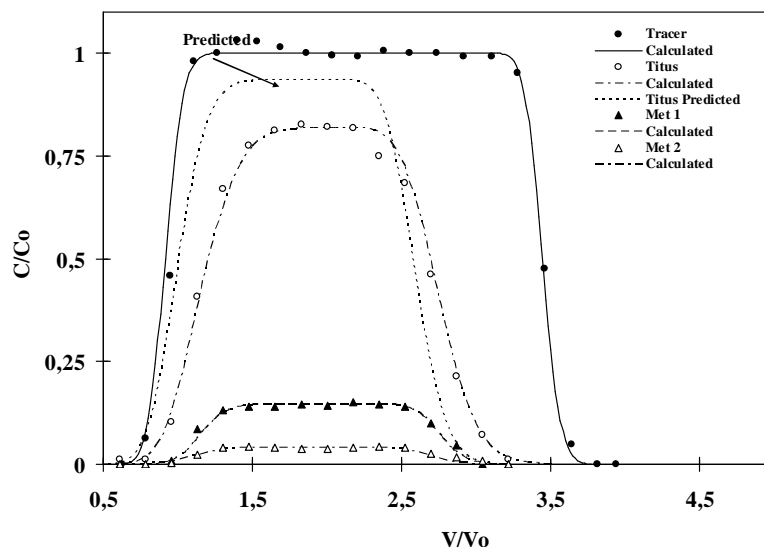


Figure 52 : Transformation du rimsulfuron au cours de son transfert en colonnes de sol alluvial limono-sableux. Apparition de deux métabolites issus de l'hydrolyse du rimsulfuron (Martins and Mermoud 1999)

Au cours du transfert réactif de l'herbicide rimsulfuron (sulfonylurée commercialisée par la société Dupont de Nemours), j'ai observé (Figure 52) une dégradation très rapide (quelques heures) de cette molécule en un métabolite I, qui se dégrade lui-même en un second métabolite qui, lui, s'accumule dans le sol (Martins and Mermoud 1999). Les courbes de percée du rimsulfuron ainsi que celles des deux métabolites ont été modélisées à l'aide du modèle décrit dans l'équation 50, avec notamment une cinétique de dégradation du premier ordre pour représenter la disparition de l'herbicide. Dans le cas du rimsulfuron, contrairement aux résultats observés dans la section précédente (Fig. 50 et 51), la courbe de percée prédite sur la base du K_D déterminé en batch sous-estime le retard de la molécule, indiquant que sa réactivité serait plus forte en conditions d'écoulement qu'en batch. En réalité ceci s'explique par le processus de transformation qui a pour effet de faire disparaître la molécule mère de la solution, comme le montre l'apparition des métabolites en sortie de colonne. Ainsi les deux processus de sorption et de dégradation s'additionnent, et il est relativement difficile de distinguer ces deux processus sans la quantification des deux métabolites, qui permet alors notamment de boucler le bilan de masse du rimsulfuron (Martins and Mermoud 1999).

L'étude concernant la biotransformation des dinitrophénols en colonnes de sol (Fig. 53) a été menée avec du sol non stérile, donc biologiquement actif et avec des solutions des 4 herbicides seuls ou en mélange. Les résultats observés montrent d'une part que ces molécules sont fortement biotransformées lorsqu'elles sont introduites seules dans le sol, comme l'attestent les courbes de percées presque plates sauf pour le dinoterb qui est significativement moins dégradé avec un bilan de masse proche de 25 %. D'autre part, on observe dans cette figure que lorsque les herbicides sont introduits en mélange dans le sol, leur comportement est largement modifié avec en particulier une augmentation significative des bilans de masse de chaque molécule indiquant une biodégradation limitée. Les essais en batch (Fig. 35) ont montré qu'en mélange, un effet de toxicité croisée survient, limitant la biodégradation de ces molécules. Ce résultat illustre l'importance des effets de multi-contaminations qui peuvent modifier la sorption d'une molécule donnée, et donc sa mobilité, mais aussi sa biodégradation par une modification de sa biodisponibilité (Martins and Mermoud 1998).

Comme indiqué auparavant, la compréhension du comportement de multi-contaminations dans les sols représente une de mes perspectives principales et correspond au sujet de thèse d'Aurélien Desauay (BDI CNRS), qui va débiter ses travaux au 1^{er} octobre 2008 sous ma direction. L'étude de la biodisponibilité de plusieurs métaux lourds en mélange (et de leur distribution à l'échelle subcellulaire bactérienne) dans des sols naturels ou anthropisés, par l'utilisation de biocapteurs bactériens, sera un des objectifs principaux de son travail.

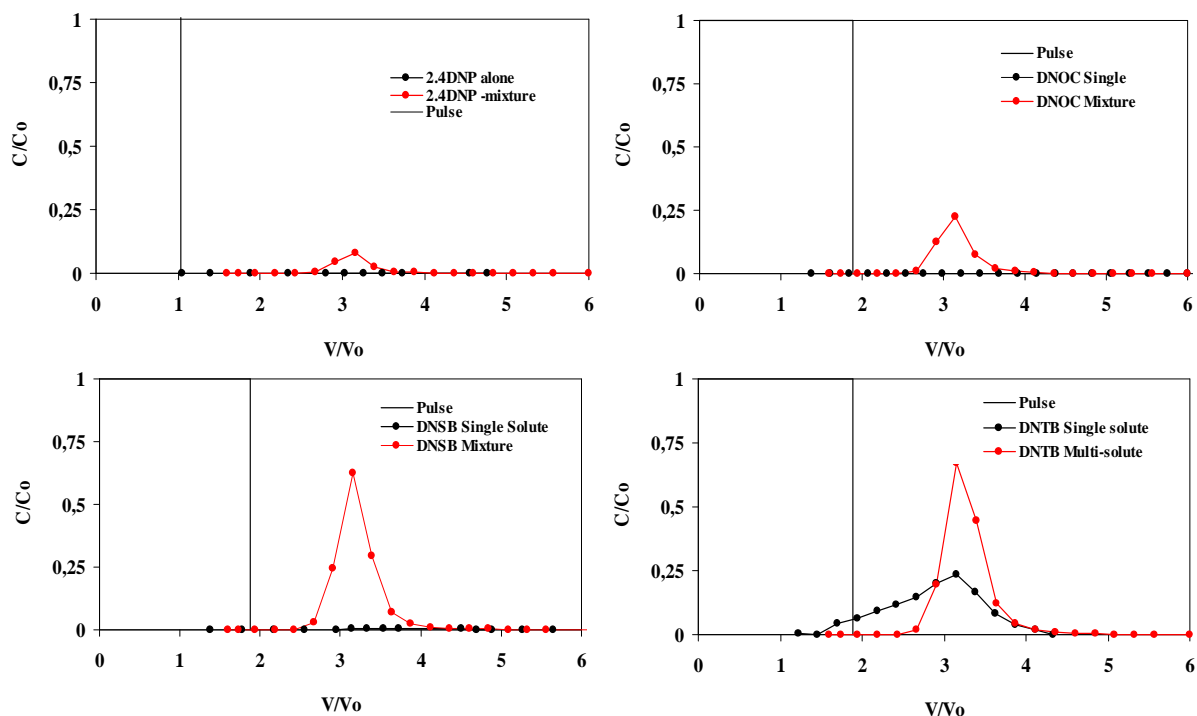


Figure 53 : Effet de la biodégradation de quatre dinitrophénols sur leur transfert en colonnes de sol alluvial limono-sableux.

Dans le cadre de l'étude de la biodégradation du pentachlorophénol dans un sol brun lessivé sous culture de maïs (sol LCSA), utilisé comme sol modèle, j'ai utilisé la bactérie *Rhodococcus chlorophenolicus*, adaptée à sa dégradation (Apajalahti et al. 1986). Ainsi, j'ai comparé le transfert réactif du PCP dans le sol inoculé ou non par cette bactérie (Figure 54). Les résultats observés montrent qu'une partie importante du PCP est biodégradée. En effet, la différence entre les deux courbes expérimentales correspond au pentachlorophénol biotransformé, comme l'attestent les ions chlorures quantifiés dans les effluents (résultats non présentés). Les courbes de percée du PCP dans les deux colonnes ont été modélisées à l'aide du modèle avec sorption linéaire et dégradation de premier ordre (Eq. 41).

Comme dans la figure 51, on observe l'effet de la variation de force ionique liée à la fin de l'application du PCP dans la colonne, qui se traduit par un pic de concentration en PCP dans l'effluent. Ce pic correspond au transport du PCP sous forme sorbée sur des particules solides et sur des cellules de *R. chlorophenolicus* préalablement inoculées dans le sol. En effet, les bactéries inoculées dans les sols étant connues pour persister les premiers temps dans la phase dite externe des sols (autour des grains de solide), cela les rend relativement mobilisables lors de variations de force ionique de l'eau.

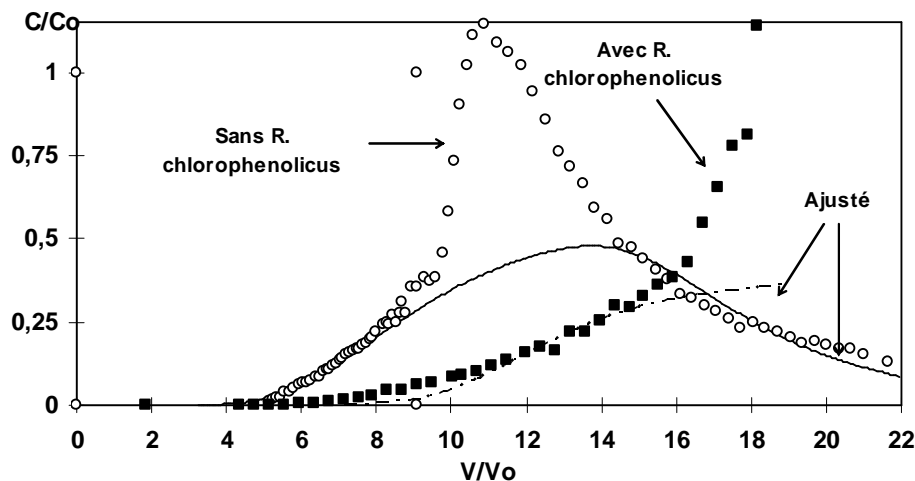


Figure 54 : Effet de l'introduction d'une population de *R. chlorophenolicus* dans le sol LCSA sur le transfert réactif du pentachlorophénol en colonne saturée en eau (Martins 1993).

Ces résultats indiquent que la bioremédiation par inoculation de microorganismes du sol contaminé par du PCP est efficace en termes de biotransformation, mais que cela peut également provoquer une augmentation de la mobilité du pentachlorophénol sous sa forme sorbée sur les colloïdes minéraux et surtout bactériens.

4.3.2.6 Transport de colloïdes bactériens et transfert facilité de polluants

Les phénomènes biologiques intervenant dans les sols sont fortement sous le contrôle de la densité de microorganismes et de leur distribution spatiale. Un aspect très complémentaire de cette distribution est leur mobilité dans les milieux poreux qui est à l'origine de modifications de cette distribution *via* la colonisation de nouvelles niches écologiques ou la contamination des eaux souterraines. Il est donc tout à fait important d'étudier les propriétés de mobilité des colloïdes microbiens dans les sols, ne serait ce que pour tenir compte de leur aptitude à véhiculer des polluants, comme nous venons de le voir pour le pentachlorophénol ou d'autres polluants métalliques (Guiné et al. 2003).

L'étude de la mobilité de cellules bactériennes a été menée notamment dans le cadre de la thèse de Véronique Guinée (2003-2006) et sera poursuivi avec la thèse d'Elsa Vitorge (BDI CNRS-CEA) initiée en 2007 au LTHE et co-dirigée avec JP Gaudet (LTHE) et Stéphanie Szencknect du L2T-CEA.

Cette étude a été menée à l'échelle de la colonne de sol saturé en eau afin de caractériser le transfert de colloïdes bactériens dans les milieux poreux et son effet sur la mobilisation de polluants, notamment métalliques (Hg, Zn, Cd, Cu). Ces travaux ont été développés avec 3 modèles bactériens bien connus au laboratoire : *E. coli* DH5, *Pseudomonas putida* et *C. metallidurans* CH34.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude (Guiné 2006, Guiné et al. 2003, en prép.) nous ont permis d'établir les principaux facteurs bio-géo-chimiques qui contrôlent la mobilité de bio-colloïdes bactériens dans les sols sableux : le type de souche bactérienne utilisée (Fig. 55), la concentration cellulaire dans la solution du sol (Fig. 56), la force ionique de la solution du sol (Fig. 57), ou encore la matière organique qui semble dominer les autres compartiments des sols (Fig. 58). Le pH ou la vitesse d'écoulement semblent moins importants dans nos conditions expérimentales.

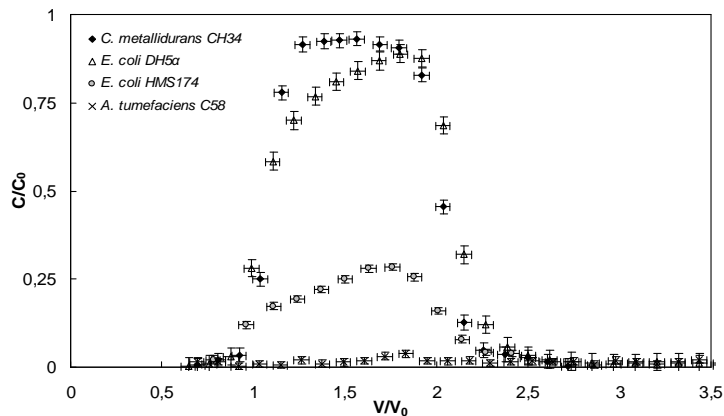


Figure 55 : Courbes de percées de quatre souches bactériennes en colonnes de sable de Fontainebleau saturées en eau. (Guiné et al. En Prép.)

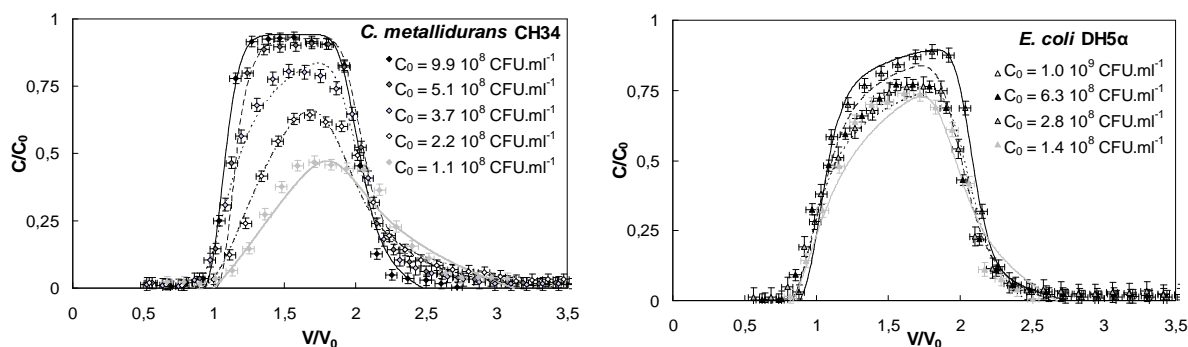


Figure 56 : Courbes de percées des bactéries *Cupriavidus metallidurans* CH34 et *Escherichia coli* à différentes concentrations cellulaires en colonnes de sable de Fontainebleau saturé en eau (Guiné and Martins, sous presse)

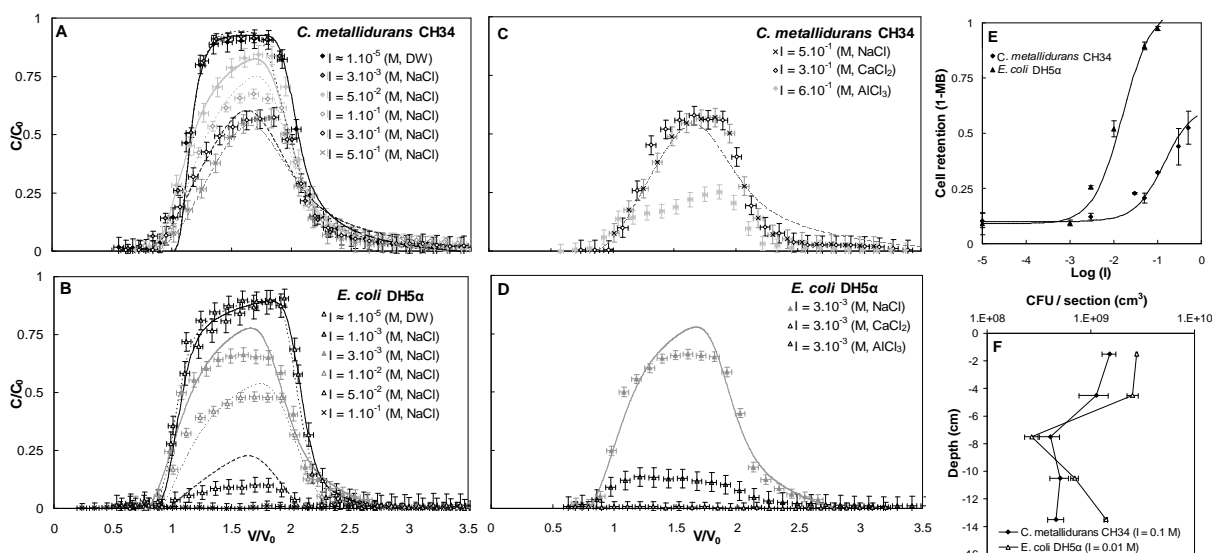


Figure 57 : Effet de la force ionique sur le transfert réactif de deux souches bactériennes en colonnes de sable de Fontainebleau saturé en eau. (Guiné et al. 2003, Guiné et al. En prép.).

Un autre résultat important de cette étude est que les cellules bactériennes (*E. coli* et *C. metallidurans* CH34) sont très peu retardées (R) par rapport au transport de l'eau, expliquant ainsi l'accélération du transport du PCP observée dans les figures 51 et 54 ou de polluants métalliques (Guiné et al. 2003). Comme pour les particules abiotiques, l'augmentation de la force (et de la nature) ionique de la solution du sol, sont des facteurs prépondérants pour la mobilité des bactéries. Ainsi avec l'augmentation de la force ionique, on observe d'une part une forte diminution de la mobilité (représentée par le bilan de masse ([UFC]s/[UFC]e), et d'autre part, une augmentation du facteur de retard de 1.3 à 1.5.

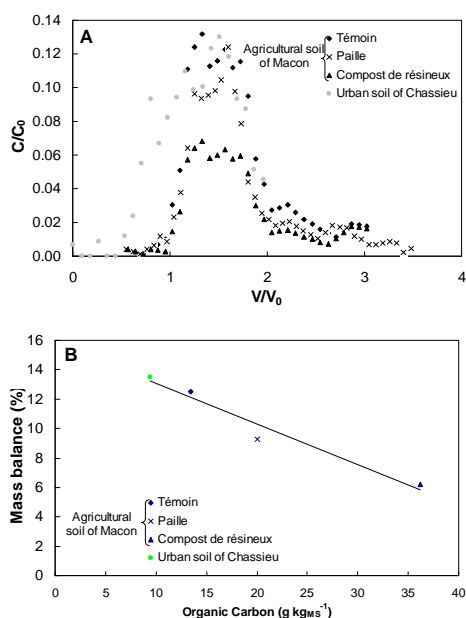


Figure 58 : Haut : Courbes de percées de cellules bactériennes dans quatre sols à teneur en MO différente. Bas : Relation linéaire entre la teneur en carbone organique des sols et la mobilité de cellules bactériennes, représentée par leur taux d'éluion (Guiné et al. In prep.)

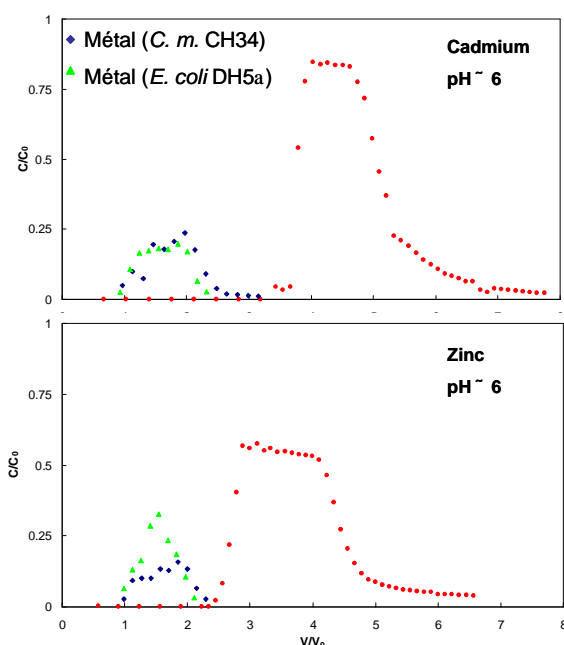


Figure 59 : Effet de l'inoculation de *E. coli* (▲) et *Cupriavidus metallidurans* CH34 (◆) sur le transfert de Cd et Zn (♦) en colonnes de sable de Fontainebleau saturé en eau. Les courbes de percée des métaux à un Vp correspondent aux métaux biosorbés (Guiné et al. 2003).

Les résultats présentés ci-dessus ont permis de mieux comprendre le transport de bactéries dans les sols naturels et en particulier les principaux facteurs qui le contrôlent et sont ainsi impliqués dans les processus de colonisation des milieux ou de dissémination de bactéries potentiellement pathogènes. Ces résultats nous ont aussi amenés naturellement à évaluer l'aptitude des bactéries à servir de vecteur aux micropolluants en milieu poreux. Ainsi, j'ai développé plusieurs études sur le transport de polluants métalliques ou organiques en présence d'une phase biotique réactive et mobile, qui m'ont permis de montrer que, selon les conditions biogéochimiques, les cellules bactériennes pouvaient largement servir de vecteurs à ces contaminants. Que ce soit dans ma thèse (Martins 1993) avec le pentachlorophénol (Figure 54), ou dans la thèse de V. Guiné (Guiné 2006) avec deux polluants métalliques différents (Figure 59), nous avons pu montrer que la présence de bactéries entraîne une augmentation significative, ainsi qu'une accélération du transport de ces polluants par rapport au transport mesuré sans les cellules bactériennes. Ainsi, dans le cas des métaux lourds, ces travaux ont permis de montrer qu'en présence de cellules bactériennes, les facteurs de retard du Zn et du Cd dans les sols (et dans nos conditions expérimentales) diminuent de facteurs 2.5 et 3.5, respectivement, à environ 1,3, soit le facteur de retard des courbes de percée des bactéries. Dans ces conditions (en présence de bio-colloïdes actifs), le transport des métaux biosorbés devient majoritaire (Figure 59) par rapport au transport dissous beaucoup plus lent. On peut donc parler de transport accéléré des polluants par les bactéries. La modélisation présentée dans cette figure, qui apparaît assez correcte pour une première approche, a été effectuée sur la base des constantes de complexation des cellules bactériennes déterminées d'après la figure 23, et des paramètres de mobilité en colonne tirés de la Figure 56, sans aucune autre contrainte particulière.

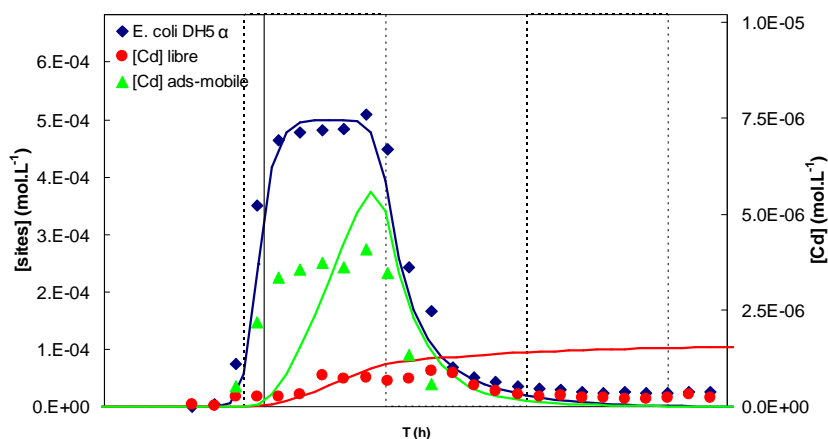


Figure 60 : Modélisation du transport facilité de Cd par des cellules de *E. coli* (♦) représentées par leur densité de sites de sorption déterminés dans la figure 23. La concentration en cadmium biosorbé (▲) est largement plus élevée que celle du Cd dissout (●). Les courbes ont été obtenues par une modélisation couplée de réactivité et transport avec PhreeqC2 (Guiné et al. 2006, en Prép.).

Nous avons montré de la même manière avec le pentachlorophénol (Fig. 54), que lorsque des cellules de *Rhodococcus chlorophenolicus*, capable de le dégrader, sont préalablement inoculées dans un sol naturel (sol LCSA), le pentachlorophénol non-biodégradé est transporté de manière beaucoup plus importante (pic de concentration) par les colloïdes du sol. On peut facilement attribuer ce pic de concentration en PCP à un effet de la déstabilisation de particules réactives qui avaient piégé le polluant et qui l'ont transporté de manière rapide. En particulier les bactéries inoculées semblent fixer fortement le PCP avant d'être mobilisés de manière préférentielle lors du remplacement de l'injection de PCP dans la colonne par celui d'eau déminéralisée simulant l'effet d'une pluie, et donc d'un changement de force ionique favorable au transport bio-colloïdal.

La conclusion principale de ces travaux est que le paramètre biologique est extrêmement important dans le transport des polluants métalliques mais aussi organiques dans les sols (Guiné et al. 2003, Martins and Guiné 2003, Guiné and Martins sous presse). Son intérêt est évident pour la bio-dépollution de sols contaminés aux métaux lourds, dont le développement est prometteur, notamment par des traitements *ex-situ* par bioaccumulation bactérienne suivie de lixiviation des bactéries.

C'est un volet de recherche que je vais poursuivre et même renforcer (Thèse d'Aurélien Desauay, 2008-2011) car à l'interface de plusieurs problématiques importante pour le devenir des polluants dans les écosystèmes terrestres : l'aspect colonisation du milieu et distribution spatiale des bactéries, l'aspect rétention des polluants et l'aspect transfert accéléré des polluants dans l'environnement.

5. Conclusions

Les travaux que j'ai synthétisés dans ce mémoire sont à l'interface entre la microbiologie, la géochimie environnementale et la physique des sols. Ils visaient à une meilleure compréhension et représentation des processus impliqués dans le devenir de micropolluants dans les sols. Les différentes approches expérimentales développées ont permis de mieux comprendre les principaux mécanismes impliqués et même de contribuer à la mise en évidence de nouveaux tels que le transport biocolloïdal des polluants ou les effets de compétition pour les sites de sorption (multi-pollutions organiques) ou les effets de toxicité croisée dans les cas de ces multi-contaminations.

A partir de la conceptualisation des mécanismes physiques, chimiques et biologiques ainsi caractérisés, ce travail montre qu'on dispose aujourd'hui d'un certain nombre d'outils de modélisation qui permettent de reproduire et simuler de manière satisfaisante des cas réels simples, lorsque le problème est réductible à une seule espèce chimique mais aussi en présence de plusieurs espèces chimiques, voire lorsque le polluant est transporté par des bactéries. Bien entendu des progrès importants restent à faire dans ce domaine, notamment en favorisant les études couplées et la modélisation multiprocessus, qui, basée sur une approche de dynamique des systèmes telle que décrite dans ce mémoire permettra d'identifier, en conditions contrôlées, les mécanismes prépondérants, y compris complexes, qui se déroulent dans les milieux poreux naturels *in situ*.

La connaissance des mécanismes prépondérants est indispensable pour toute la gamme de variation possible des variables (vitesse de l'eau, teneur en eau, pH, force ionique, complexations...), pour justifier les hypothèses simplificatrices et pour définir le domaine de validité de la modélisation retenue. Elle est également indispensable pour estimer des risques d'accumulation excessive ou de relargage brutal. Enfin, elle est un préliminaire incontournable à toute intervention efficace de dépollution, notamment pour limiter le risque d'une faible efficacité, ou du report du problème vers un autre compartiment de l'environnement (nappe souterraine, atmosphère, eaux de surface...).

La mise en évidence, dans ce mémoire, du rôle crucial des processus de transfert particulière des micropolluants dans les sols contribue sans doute au progrès dans la compréhension de ces phénomènes à l'échelle du pore, mais aussi à l'échelle du terrain. Il reste à les faire progresser et notamment les connaissances sur le transport colloïdal et sur les biotransformations en milieux naturels telles qu'elles sont contrôlées par les cinétiques de transfert de masse, l'accessibilité des polluants et leur biodisponibilité. L'amélioration probable du savoir faire numérique dans les prochaines années (modélisation inverse, homogénéisation...) permettra de résoudre simultanément les écoulements d'eau complexes et les réactions chimiques multi-espèces homogènes, hétérogènes et cinétiques, et les processus biologiques des sols, ce qui est encore impossible actuellement.

L'approche par modélisation semble être la seule qui permettra de répondre dans des délais et à un coût raisonnables aux attentes de notre société compte tenu de la très grande diversité des polluants déversés dans l'environnement et des milieux récepteurs. Ainsi, l'évaluation de l'effet des polluants ou d'agents pathogènes dans l'environnement sur la santé humaine et les écosystèmes est un des défis scientifiques et sociétaux majeurs de ce 21^{ème} siècle. La prise de conscience de la nécessité de mieux maîtriser les effets de certains rejets anthropiques sur l'environnement s'est traduite par la mise en place récente de cadres réglementaires forts et constitue une priorité pour le CNRS.

Ainsi, la mise en place au niveau Européen du règlement REACH (Registration Evaluation and Authorisation of Chemicals) rend obligatoire l'évaluation des effets sur la santé et l'environnement des substances chimiques produites en Europe.

En France, le PNSE (Plan National Santé Environnement) a posé les premières bases d'une réelle prise en compte des risques liés à l'exposition humaine à des substances chimiques ou des pathogènes. La directive Cadre sur l'Eau ou le projet de Directive Cadre sur les sols nécessitent le développement d'outils permettant de qualifier le « bon état » des eaux ou des sols.

Depuis plusieurs décennies, la toxicologie environnementales (santé humaine) et l'écotoxicologie (écologie et toxicologie des organismes des écosystèmes) se sont fortement développées et proposent des outils d'évaluation pour répondre aux questions posées par les gestionnaires. Même si les questions liées à la santé humaine et à celle des écosystèmes sont traitées et gérées par des acteurs assez différents (disciplines scientifiques, acteurs institutionnels), il est maintenant indispensable de répondre à ces deux types de questionnement de façon coordonnée et intégrée.

En effet, un écosystème dégradé ne sera plus apte à minéraliser, stocker, détoxifier, éliminer les contaminants ou les pathogènes. Cette perte de fonctions aura donc des conséquences sanitaires directes. Dans ce contexte, pour limiter, ou au moins ralentir cette dégradation inévitable de notre écosystème, les études interdisciplinaires telles que celles présentées dans ce mémoire apparaissent donc comme primordiales et doivent venir compléter les études classiques d'exposition ou d'impact.

Ainsi, pour faire progresser le domaine scientifique couvrant l'écotoxicologie et l'écodynamique des contaminants, il faut poursuivre nos efforts pour mieux comprendre le devenir et l'effet d'un toxique (ou éventuellement d'un organisme pathogène) depuis l'échelle moléculaire jusqu'à la biosphère. Ceci permettra alors de réellement intégrer les approches classiques d'impact (observation et expérimentation) aux sciences de l'environnement et de la modélisation. Seule cette approche intégrée permettra de décrire et prédire aussi bien le devenir des contaminants dans les systèmes récepteurs (pour mieux évaluer l'exposition à ces substances) que de tester l'effet d'une large gamme de produits chimiques ou de mélanges sur les organismes vivants ou encore de prédire la dissémination de polluants chimiques ou biologiques à grande échelle dans les écosystèmes naturels. Ceci permettra alors d'obtenir des scénarii représentatifs du devenir et de l'impact de ces toxiques dans les écosystèmes, très utiles pour la prise de décision.

En effet, l'impossibilité de tester de façon systématique tous les produits chimiques commercialisés rend indispensable le développement de nouvelles approches d'évaluation des substances. En particulier il faut développer de nouveaux outils prédictifs incluant le moins de tests expérimentaux systématiques possibles qu'il faudra mener, quand ils sont indispensables, à une échelle suffisamment large pour permettre l'intégration de tous les processus prépondérants identifiés aux échelles inférieures comme cela a été montré dans ce mémoire.

Université Joseph Fourier – Grenoble I

Spécialité : Environnement

Synthèse des Travaux de Recherche
en vue de l'obtention de

l'Habilitation à Diriger des Recherches

E

PERSPECTIVES

2009 - 2012

Jean M.F. Martins

Chargé de Recherches au CNRS

LTHE (UMR 5564), Equipe Transpore

1 Préambule

La quantification et la modélisation des processus biogéochimiques dans les écosystèmes continentaux complexes (sol, sédiments...) où les échelles spatiales et temporelles sont étroitement imbriquées, sont de véritables défis scientifiques et technologiques à gérer sur le long terme. Le devenir des micropolluants dans ces environnements et leur prédiction sont devenus aujourd'hui l'une des préoccupations majeures de notre société comme l'a montré le grand intérêt de la société civile pour la problématique de la qualité de l'air, de l'eau et du sol, lors du Grenelle de l'environnement à l'automne 2007.

Ainsi l'accroissement de nos connaissances sur l'impact, le comportement des polluants dans les différents milieux récepteurs jusqu'à leur toxicité pour l'Homme, notamment via la chaîne alimentaire mais aussi par les voies respiratoires, est enfin devenu une priorité en matière de recherche environnementale. Ces nouvelles connaissances devront être mises à profit pour améliorer ou élaborer les règles d'introduction volontaire de composés exogènes dans notre environnement grâce notamment à une meilleure prédiction de leur comportement.

C'est ainsi par exemple que la directive européenne REACH est en train de révolutionner cet aspect, ce qui ne peut être, à terme, que bénéfique pour l'état sanitaire global de notre environnement. Toutefois, cette directive ne concerne que les composés organiques, sans prendre en compte les métaux lourds ou les pollutions multiples ou mixtes, qui sont pourtant les cas les plus généraux (sauf dans le domaine phytosanitaire), et en tout cas les plus complexes donc les plus difficiles à prédire.

Des efforts similaires doivent donc être entrepris pour améliorer nos connaissances sur le devenir et l'impact de micropolluants inorganiques, éventuellement en mélange avec d'autres polluants, dans les milieux naturels mais aussi anthropisés (agricoles et urbains) qui sont de plus en plus vulnérables (Fig. 61).

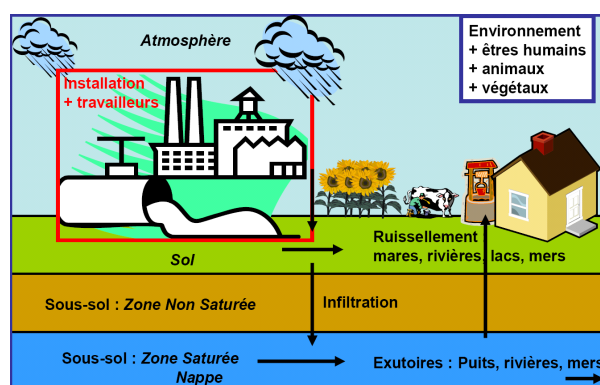


Figure 61 : Problématique générale du devenir et de l'impact des micropolluants dans les milieux naturels et anthropisés.

Ces nouvelles connaissances sur le fonctionnement de ces milieux en relation avec des perturbations bio-physico-chimiques, devront être mises à profit pour améliorer ou développer des procédés de remédiation des milieux contaminés novateurs, notamment ceux faisant appel aux micro-organismes.

C'est dans ce contexte que je vais poursuivre mes travaux de recherche sur l'étude des processus biologiques, physiques et chimiques couplés, impliqués dans le devenir et l'impact des éléments traces métalliques et organiques dans les sols, et leur modélisation.

Le but principal de mes travaux est d'améliorer la compréhension et la modélisation du rôle des microorganismes dans les transferts réactifs d'eau et de micropolluants dans les sols (interfaces solution/minéral/matières organiques/microorganismes) à différentes échelles d'espace et de temps, et dans une optique de bioremédiation.

L'approche développée se veut fortement pluridisciplinaire, cohérente avec l'hétérogénéité texturale et structurale des milieux étudiés, et sera basée sur la prise en compte de la spatialisation de la distribution des micropolluants et des microorganismes à l'échelle des agrégats de sols (micro-biogéographie aux interfaces minéraux/solution/matière organique). Seul ce type d'approche permettra d'établir les processus dominants aux différentes échelles considérées et les temps caractéristiques des mécanismes correspondants (temps de séjours, de contact, de réaction, de transfert, de résilience...).

2. Cadre général

Le nouveau découpage du laboratoire qui est intervenu avec le dernier plan quadriennal, a modifié profondément la structure du laboratoire. En effet, le LTHE est aujourd'hui composé de 5 équipes (au lieu de 3 précédemment) avec notamment la division, de l'équipe "Poreux et Processus Hydrologiques" (P2H), dont je faisais partie, en deux équipes. Ces deux entités sont Transpore, (Transferts en milieux Poreux et Réactions) traitant des milieux poreux, dans laquelle je développe mes activités, et l'autre River (Rivières et Erosion) traitant principalement des milieux aquatiques. Ce découpage a entraîné un recentrage des objectifs de recherche de ces équipes, d'autant que des thématiques nouvelles (e.g. déchets, géo-matériaux), demandeuses de compétences en microbiologie environnementale, ont été intégrées suite à l'arrivée au LTHE de nouveaux chercheurs en provenance du LIRIGM à la demande de l'Université Joseph Fourier Grenoble I.

A un niveau plus large, une structuration nouvelle a pris forme dans la recherche en environnement à Grenoble, avec notamment la montée en puissance du pôle environnement de la région Rhône-Alpes (Envirhonalp). De toute évidence, son fonctionnement va (et a déjà) fortement modifier les liens et collaborations entre laboratoires impliqués dans le domaine environnemental à Grenoble.

En parallèle, la région Rhône-Alpes développe actuellement le projet de construire un pôle d'écotoxicologie sur le site de Rovaltain à Valence. Ce projet impliquerait notamment la création d'un Très Grand Equipement (TGE), dédié aux études intégrées d'écotoxicologie des polluants dans les milieux naturels à une échelle intermédiaire entre le terrain et les colonnes de laboratoire, échelle probablement la plus intéressante (pour laquelle le LTHE présente une expertise forte), et en tout cas la moins développée. Je me suis fortement impliqué dans cette réflexion en tant que membre (avec J.D. Creutin, C. Delolme, P. Joly, B. Cournoyer et J. Garric) du groupe de travail chargé de la réflexion initiale sur la mise place de l'Ecotoxicotron, qui orienterait probablement très fortement mes travaux de recherche en apportant des dispositifs en nombre importants à une échelle d'étude intégrée très pertinente et actuellement peu disponible en France.

Sur la base de ces changements et du fait de leur impact important sur mon activité, j'ai donc recentré récemment mes recherches sur deux thèmes principaux, décrits ci-dessous, qui constituent désormais 75% de mes travaux, le reste concernant des applications plus concrètes dans le cadre de projets de recherche toujours pluridisciplinaires, mais plus proches de la demande sociétale, en cohérence avec les objectifs scientifiques de mon équipe de recherche.

3. Objectifs scientifiques à court et moyen terme :

Avec la même volonté de rupture avec les approches disciplinaires classiques, je vais poursuivre ma démarche de recherche interdisciplinaire au LTHE. Ainsi, mes travaux vont concerner les apports de la microbiologie des sols à une meilleure compréhension et à la modélisation du transfert de polluants dans les sols au travers des deux questions principales suivantes :

Quel est le rôle de la microflore bactérienne dans le devenir et les transferts de polluants dans les sols? Mes travaux s'attachent en particulier à étudier et à modéliser les processus qui contrôlent la biotransformation des micropolluants et leur réactivité avec les cellules vivantes, ainsi que leur distribution spatiale et la croissance des bactéries en milieux poreux (biofilms, colonies...) contrôlant leur mobilité.

Comment utiliser au mieux la composante microbiologique (essentiellement bactérienne) de différents milieux naturels ou artificiels, extrêmes ou non, comme bioindicateur pour comprendre et prédire l'impact des activités anthropiques (pollutions, stress, réchauffement climatique...) dans ces milieux? Le développement d'outils novateurs permettant l'accès à des paramètres aussi fondamentaux que la distribution spatiale et la diversité des bactéries, la biodisponibilité des polluants ou leur biotransformation in situ en conditions dynamiques sera l'objectif principal de ces recherches.

Les questions sous-tendues restent l'identification des facteurs contrôlant le développement et la mobilité de cellules microbiennes dans les milieux poreux naturels ou anthropiques, ainsi que ceux déterminant la toxicité et l'impact sur la microflore de contaminants diffusés dans ces milieux, et donc leur effet sur la distribution et la dynamique de populations microbiennes et leur évolution spatio-temporelle dans les sols.

Ainsi, pour répondre à ces questions, je vais poursuivre mes recherches selon deux axes principaux, complétés par des travaux plus appliqués en matière de protection de l'environnement, en relation avec la demande sociétale :

1/ axe "Rôle des microorganismes dans le transfert réactif de polluants dans les sols" portant sur la caractérisation du comportement physique (transport) et chimique (interactions) des polluants et des bactéries avec les constituants minéraux et organiques des sols, et faisant appel aux méthodes et outils déjà bien connus en hydrologie et qui sont utilisés en routine au LTHE (bilan hydrique, traceurs chimiques, spéciation liquide et solide des micropolluants et dynamique des systèmes),

2/ axe "Microbiogéochimie des micropolluants dans les sols" portant d'une part sur la caractérisation qualitative et quantitative de la composante microbiologique (essentiellement bactérienne) de différents milieux naturels ou non, extrêmes ou non, aux niveaux populations et communautés, et d'autre part sur la caractérisation de la biodisponibilité (à l'aide de biocapteurs), de l'impact des polluants dans les sols et de leurs biotransformations en conditions hydrodynamiques.

3/ axe « Application des connaissances tirées des deux premiers volets à des études de développements technologiques novateurs pour le traitement biologiques des sols et des eaux contaminés et des déchets : bioremédiation des sols, bioréacteurs pour le traitement accéléré de déchets organiques, biofiltres pour le traitement des eaux et des gaz.

Les objectifs de mon programme de recherche sont donc doubles : en premier lieu il s'agit **d'étudier puis de modéliser le cheminement de l'eau, de solutés et de colloïdes** (biotiques et abiotiques) dans les différents compartiments du sol et, d'autre part, **d'appréhender l'influence de l'eau, de la matière organique et des polluants sur les processus (micro)biologiques dans les sols** et plus particulièrement sur les biotransformations grâce notamment à l'apport d'outils de biologie moléculaire (ADN, ARNm, biocapteurs bactériens...).

Les chemins de l'eau dans les milieux poreux étant de première importance car ils conditionnent le potentiel de contamination des eaux naturelles, leur identification est une étape indispensable pour la compréhension du fonctionnement des hydro-systèmes souterrains qui, malheureusement, n'est encore que très partielle, notamment dans les systèmes fortement soumis au transport colloïdal, qui constitue un de mes volets de recherche principaux (colloïdes bactériens).

Ces deux premiers axes de recherche principaux sont complétés par des recherches plus appliquées bien que très prospectives. Parmi celles-ci, deux exemples représentatifs concernent d'une part l'étude de la colonisation des milieux poreux par des bactéries (mobilité, adhésion et croissance) et la formation de biofilms (effet des propriétés de surface, des facteurs physiques, vitesse et type d'écoulement -laminaire ou turbulent...- et chimiques (force ionique, pH...) dans le cadre de collaborations continues avec le LGIT, le LEGI, le Laboratoire de Rhéologie de Grenoble (PPF IBHIS, 2007), et le L3SR pour les aspects de modélisation (Thèse de Sérigne Mbaye, je participe au comité de pilotage de sa thèse). D'autre part je mène des travaux sur le suivi de la qualité microbiologique des lixiviats produits lors du compostage de déchets organiques en bioréacteurs pour Installation de Stockage de Déchets Non Dangereux et notamment l'effet sur la formation de biofilms. Ces travaux sont menés dans le cadre du projet « Bioréacteur » (2007-2009) coordonné par Robert Moreto et Jean Pierre Gourc (LTHE) et financé par l'ANR Precodd (Post-doctorat de Christophe Morra, LTHE).

4. Objets étudiés

Je vais poursuivre ces 3 axes de recherche au travers de l'utilisation de 3 bactéries modèles :

- *Cupriavidus metallidurans* CH34 une bactérie résistante à de nombreux métaux et composés organiques, ce qui en fait un modèle puissant pour les études de bioremédiation,
- *Escherichia coli* DH5a, bien connue et bon représentant des coliformes fécaux susceptibles de contaminer les eaux profondes,
- *Pseudomonas putida*, une bactérie dégradant de nombreux composés organiques (e.g. phénol) et présentant une forte aptitude à développer des biofilms en milieux poreux, ce qui en fait également un bon modèle pour les études d'adhésion-détachement et colonisation des milieux.

Ponctuellement j'utilise également la bactérie dénitrifiante *Pseudomonas aureofaciens* dans le cadre des études menées en collaboration avec Joël Savarino du LGGE.

De la même manière, j'ai retenu 4 métaux lourds et 2 composés organiques comme polluants modèles pour la suite de mes travaux de recherche :

- le zinc (métal le plus rejeté dans l'environnement et considéré comme mobile),
- le cadmium (présent dans les sols à très faibles doses (= ppb) potentiellement toxiques et considéré comme mobile et biodisponible)
- le cuivre (largement utilisé en agriculture, bouillie bordelaise, et dans l'industrie).
- Le chrome, déjà étudié au LTHE, et pour lequel les mécanismes de biotransformation sont bien connus. Par ailleurs, je dispose d'un biocapteur indicateur de sa biodisponibilité,
- le paclobutrazol, une hormone de croissance végétale
- le phénol, composé organique modèle facile à biodégrader et constituant un fréquent contaminant dans l'industrie.

D'un point de vue biologique, le zinc et le cuivre sont des éléments essentiels à faible dose pour tous les organismes vivants mais peuvent devenir toxiques à certaines doses.

Les thèmes abordés s'insèrent dans 2 des 4 principaux axes de recherche de l'équipe Transferts couplés en milieux poreux hétérogènes (Transpore) du LTHE et concernent :

- 1/ l'étude des mécanismes de transfert, d'interactions et de biotransformations en milieux poreux
- 2/ la détermination de coefficients phénoménologiques utiles pour la modélisation.

5. Méthodologies et outils

La finalité de mes recherches est de favoriser la diffusion de connaissances et de compétences de la microbiologie vers la physique du sol et réciproquement.

Pour atteindre mes objectifs, je vais poursuivre le développement d'une démarche pluridisciplinaire, favorisée par les facilités techniques et scientifiques que j'ai mises en place au LTHE depuis mon recrutement, et, à un niveau plus large, à l'Observatoire des Sciences de l'Univers de Grenoble (OSUG). Ces structures me permettent de disposer facilement de compétences et d'outils maîtrisés en routine en microbiologie, physique et hydrologie mais également en géochimie grâce à des collaborations privilégiées avec le LGIT ou le LGGE.

Les compétences en microbiologie complémentaires de celles que je développe sont également disponibles à Grenoble via notamment le plateau technique MOME du pôle Envirhonalp et dans le plateau MARMOL du LECA (études de biodiversité, collaboration avec R. Geremia), au CERMAV (étude des exopolysaccharides microbiens, collaboration avec A. Heyraud et Karim Mazeau) ou au DRDC/CEA ou à l'IBS (études de génétique microbienne, collaboration avec J. Covès).

Ce cadre favorable est donc complété par celui du pôle Envirhonalp de la région Rhône-Alpes et de ses plateaux techniques, et notamment le plateau MOME, que je coordonne avec R. Geremia, ou les plateaux PMPN, CSDU, PEI dans lesquels je suis fortement impliqué.

Mes travaux de recherche seront basés sur l'utilisation des outils les plus performants de chaque discipline, et, pour certains déjà maîtrisés au LTHE de manière autonome ou en collaboration, notamment les outils de :

- biologie moléculaire (fusion de gènes, biocapteurs, PCR, SSCP, ARISA...),
- spectroscopie (EXAFS, XANES, STXM, PIXE...),
- microscopie (TEM EDX, μ FTIR, EELS...) et cytométrie de flux (Acuri),
- de physique des sols : suivi d'humidité, relation K(h), fractionnement granulométrique, porosimétrie,
- dynamique des systèmes (colonnes de sols, bioréacteurs, fermenteurs Sixfors, Terrafors...),
- géochimie (isotopes ^{203}Hg , Cd, ^3H , ^{14}C , ^{17}O , ^{18}O , ^{15}N ...)
- rhéologie et micro-fluidique (pince optique, μ PIV, granulomètre laser, zétamètre,...).

6. Thématiques prioritaires

Concrètement, je vais évidemment privilégier la poursuite de mes activités reconnues au niveau national et international, et que j'ai initiées à Grenoble, et en premier lieu les interactions aux interfaces solution/minéral/matières organiques/microorganismes et plus particulièrement la « réactivité de surface des bactéries avec les métaux lourds » et « le transport de bactéries en milieux poreux et leur développement en biofilms » (Thèses d'Aline Navel et d'Aurélien Desauay, qui débutent le 1^{er} octobre 2008). L'avancement de ces travaux sera donc fortement lié au développement des projets en cours et du financement de projets nouveaux soumis pour financement. Un aspect très favorable est l'arrivée cette année au laboratoire d'un Assistant Ingénieur en Microbiologie qui va me permettre de renforcer cet axe de recherche au laboratoire.

Le renfort par un chercheur en écologie moléculaire me semble indispensable pour que ces activités prennent rapidement une nouvelle dimension.

Priorités :

1/ Interactions de surface bactéries/métaux et modélisation.

La caractérisation de la réactivité cellulaire aux métaux à un niveau supérieur est en cours grâce à une collaboration avec le CERMAV dans le cadre de la thèse de Benjamin Causse co-encadrée par C. Delolme et L. Spadini (je suis dans le comité de pilotage). En effet, nous étudions actuellement la réactivité spécifique aux métaux lourds d'un des composants principaux des parois bactériennes, les exopolysaccharides (EPS), avec pour modèle le Xanthane. L'étude de ce composé purifié après surproduction chez *Xanthomonas campestris* par Véronique Guiné (ex-doctorante ADEME au LTHE) et Jérôme Gury (Post-doc Toxnuc au LECA) a déjà permis d'obtenir des résultats intéressants notamment en dynamique moléculaire (Causse et al. 2007).

De plus une collaboration avec le Prof. Jeremy Fein, de l'Environmental Molecular Science Institute (EMSI), de l'Université de Notre Dame (USA) est également en cours dans le but de visualiser en HR-MET la distribution des métaux lourds à la surface des structures biologiques telles que les biofilms bactériens. C'est le travail mené avec l'aide de V. Guiné au cours de son stage d'ATER au laboratoire. En 2007. Cette étude a nécessité la mise au point, en collaboration avec Roland Hellmann (LGIT), d'un protocole particulier pour la préparation des échantillons bactériens. L'acquisition d'un savoir-faire supplémentaire en cryo-microtomie, que j'envisage d'acquérir prochainement, est nécessaire pour la préparation de nos échantillons de biofilms.

2/ La priorité sera donnée également à mes activités concernant d'une part, la mobilité des métaux dans les sols (projet MOBIPO-Cu EC2CO-Cytrix, 2007-2010), pour lesquelles, je vais me focaliser sur la caractérisation de la fraction colloïdale biotique et abiotique en faisant appel à des approches de spectroscopie EXAFS et PIXE (collaboration avec L. Spadini du LGIT), et de microbiologie et biologie moléculaire pour la caractérisation fine des populations bactériennes indigènes (nombre et biodiversité par ARISA et SSCP en collaboration avec R. Geremia du LECA, Grenoble) des sols (résistantes ou non au cuivre) impliquées dans le transport du cuivre dans les sols en conditions dynamiques, et lors du vieillissement des matières organiques.

Pour ces différents aspects, mes principaux objectifs restent l'approfondissement des connaissances sur le rôle des bactéries dans le transport des polluants dans les sols et les bio-réactions impliquées. De même le chiffrage des paramètres physico-chimiques qui contrôlent l'impact biologique des polluants notamment au travers de leur biodisponibilité, facteur clé pour la mise en contact polluants/micro-organismes nécessaire pour observer un effet de toxicité, est une priorité, avec le développement d'une activité Biocapteurs qui ne fait que s'amplifier au laboratoire et qui commence également à être reconnue aujourd'hui (Martins et Nazaret 2001, Lejon et al. 2007, 2008).

3/ Parallèlement à ces deux thématiques de recherche principales liées à la compréhension des phénomènes couplés (micro) bio-géo-chimiques, je vais poursuivre des travaux permettant l'application directe des résultats de mes recherches. Ces activités sont conduites dans le cadre de projets de recherche pluridisciplinaires liés à diverses applications spécifiques de la composante microbiologique que je développe. Je détaille ci-dessous quelques exemples de ces activités de recherche plus appliquée. En termes d'occupation, toutes ces activités représenteront environ 25% de mon temps de recherche.

7. Autres thématiques de recherche

Etude du développement et du fonctionnement de biofilms en biofiltres à lits fixe

(Collaboration avec le LEGI et le L3S-R de Grenoble, dans le cadre du projet Biofiltration de Gaz, financé par l'ACI «Non Pollution, dépollution»).

Ces travaux s'insèrent dans le cadre du pôle Envirhonalp (Plateau PEI) (<http://envirhonalp.obs.ujf-grenoble.fr/test/index.php?option=content&task=view&id=99>) et plus particulièrement du Plan PluriFormation IBHIS (Resp. P. Séchet, LEGI et A. Magnin, Rhéologie) qui a débuté en 2007 pour une durée de 4 ans.

Les recherches développées dans ce thème concerne plus particulièrement les objectifs de la thèse de la thèse de S. Mbaye (LEGI) sur l'étude et la modélisation du développement et de la structure de biofilms bactériens en milieu poreux, dans le cadre de l'optimisation de nouveaux procédés de bioremédiation de pollutions organiques par cultures bactériennes fixées.

Nous avons déjà montré que le couplage transfert - biodégradation peut être mis à profit sur chacune des étapes de transfert et de dégradation pour assurer une optimisation spécifique de chaque phase du processus. Ainsi les objectifs envisagés sont doubles :

- 1/ comprendre, optimiser et modéliser les transferts de masse gaz-liquide-solide en lit fixe avec biomasse bactérienne. Les questions concernent la maîtrise de la distribution des cellules bactériennes et donc du biofilm dans le milieu poreux granulométrique et l'effet de l'hydrodynamique sur la qualité et la structure du biofilm bactérien produit. Ces deux paramètres semblent contrôler les échanges entre phases.
- 2/ optimiser le fonctionnement du biofiltre en analysant l'influence de la structuration de la biomasse sur l'efficacité de la dégradation. Cette structuration peut évoluer a priori entre deux situations extrêmes : une occupation complète des interstices par la biomasse ou la concentration de la biomasse en de fines couches localisées à la surface du lit fixe. Ces structururations ont une incidence directe sur le contact polluant/biomasse et donc sur l'efficacité de la biodégradation. Elles nécessitent aussi d'être mieux caractérisées en raison de leur influence sur la cinétique de colmatage. En particulier, la production d'exopolymères par les bactéries semble sensible aux conditions hydrodynamiques qui peuvent conduire à un colmatage plus ou moins rapide du milieu poreux. Ces études doivent donc déboucher sur la définition d'une structure de lit et de fonctionnement optimaux, impliquant éventuellement une distribution spatiale non uniforme de la porosité et des variations de flux hydrique.

Etude des sources de nitrate en régions polaire et alpine.

Dans le cadre d'une collaboration avec Joël Savarino (LGGE), nous étudions les sources de nitrate dans les glaces, neige, eaux douces et salines, par des méthodes isotopiques ^{15}N et ^{18}O faisant appel à des bactéries dénitrifiantes. La composition de l'oxygène et de l'azote isotopiques du nitrate est une signature fiable de son origine (biologique, minérale, atmosphérique...). Malheureusement les techniques actuelles d'analyse isotopique ne sont pas applicables dans les eaux fortement concentrées en sels (eaux de mer, solution des sols...), ce qui en limite la portée. Une nouvelle méthodologie basée sur le traitement des échantillons par une culture de bactéries dénitrifiantes permet de surmonter cette limitation. Déjà mise en œuvre à l'université de Princeton (USA) cette méthode est basée sur la modification du fractionnement isotopique du gaz N_2O produit par une bactérie dénitrifiante (*Pseudomonas aureofaciens*) à partir du nitrate, lors du processus de dénitrification. Dans le cadre de sa thèse, Samuel Morin a adapté cette méthode au LGGE, à partir de 2005, sous la direction de Joël Savarino. La partie microbiologique de la méthode a été mise au point au LTHE, qui fournit le LGGE en cultures standardisées de *P. aureofaciens* pour l'analyse en routine de NO_3^- d'échantillons naturels d'eaux, de glace ou de neige de toutes origines. Ces travaux, qui ont déjà permis de produire et de publier des résultats intéressants notamment dans la revue Science (Morin et al. 2008a, 2008b), vont se poursuivre de manière continue, et seront appuyés notamment par l'arrivée au laboratoire d'Erwann Vince, AI CNRS, en 2008.

Paramètres biologiques impliqués dans la dégradation de déchets ménagers en bioréacteur.

Collaboration avec J.P. Gourc (LTHE) et Rémy Gourdon (LAEPSI de l'INSA Lyon), dans le cadre du projet ANR Precodd « Bioréacteurs ». 2006-2009.

Le projet consiste à étudier en conditions de stockage de terrain (site de Chatuzange, Drôme) ou de laboratoire, en bioréacteurs pilotes installés au LTHE et à l'INSA Lyon, l'évolution de résidus anthropiques du type déchets ménagers biodégradables, selon leur composition et leur conditionnement thermo-hydro-mécanique. En référence au concept de développement durable appliqué aux Installations de Stockage de Déchets (ISD), l'objectif principal est d'optimiser les conditions permettant l'accélération de la biodégradation (influence d'un prétraitement biomécanique) et la recirculation des lixiviats (étude en bioréacteurs).

Les principaux paramètres caractérisés dans le déchet sont la composition, la teneur en eau, la contrainte de confinement, la porosité, la compressibilité, la pression interstitielle, la perméabilité, la température, le nombre, la diversité et l'activité de la microflore bactérienne.

Cette étude est développée dans le cadre du plateau CSDU d'Environalp et bénéficie des compétences du plateau MOME pour les aspects microbiologiques (diversité, quantité, activité).

Les préoccupations environnementales restent donc le moteur de mes travaux, en réponse à la forte demande sociétale dans les domaines de l'aide au diagnostic et à la réhabilitation de sols et d'eaux pollués, de la dépollution de ces compartiments, du développement durable...

Les objectifs de mes projets de recherche présentent une bonne cohérence avec les perspectives de l'équipe Transpore du LTHE. En effet, la restructuration du laboratoire en 5 équipes en 2007 induit

actuellement un recentrage des activités du laboratoire vers les problématiques des interfaces, notamment eau/sol/biologie/qualité et donc un renforcement de ma thématique de recherche. Ceci se traduit actuellement par le renforcement au LTHE des activités de recherche en environnement, en liaison avec le pôle environnement de la région Rhône Alpes (Envirhonalp) dans le cadre du fonctionnement en plateaux.

En particulier, cette restructuration des activités en environnement en Rhône-Alpes a été le point de lancement d'une structuration des activités de microbiologie environnementale autour du plateau technique de "microbiologie des milieux extrêmes (MOME), dont je suis co-responsable avec Roberto Geremia (LECA). Ce plateau technique regroupe des forces grenobloises en microbiologie au sens large, et devrait être basé à moyen terme, au sein d'une plate-forme "Envirhonalp" (UJF/INPG). Les deux zones expérimentales de ce plateau sont actuellement situées au LECA (Zone 1) et surtout au LTHE (Zone 2) dans le bâtiment CERMO, où des facilités fédératrices de ce plateau sont déjà installées ou le seront en 2008, grâce au soutien financier de l'INSU (Mi-lourds 2008).

Les activités de recherche menées actuellement dans cette zone expérimentale concernent plusieurs de mes projets en cours : « Vostok », « Biofiltre », « Isotopes du nitrate » ou ceux de Roberto Geremia (ANR Microalps) du LECA avec qui je développe aujourd'hui des collaborations privilégiées et qui vont se renforcer ces prochaines années, notamment avec la co-direction de la thèse de Tarafa Mostafa initiée en 2007 au LECA. L'acquisition en 2008 de deux fermenteurs de dernière technologie (Sixfors et Terrafors), vont permettre en particulier d'initier un nouveau volet de recherche en microbiologie basé sur la culture de microorganismes en conditions parfaitement contrôlées (de température, pression, redox, ...) indispensables notamment pour les études de bioremédiation de sols ou eaux contaminés.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abollino O., Giacomino, A., Malandrino, M., Mentasti, E. Interaction of metal ions with montmorillonite and vermiculite Appl. Clay Sci. 38: 227-236. 2008.
- Alexander M. Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. Environ. Sci. Technol. 34 (20), 4259– 4265. 2000.
- Allen-King R.M. Grathwohl P., Ball W.P. New modelling paradigms for the sorption of hydrophobic organic chemicals to heterogeneous carbonaceous matter in soils, sediments, and rocks. Adv. Water Res. 25: 985. 2002
- Alonzo S. Relations entre la dynamique des populations microbiennes et la mobilité du cuivre dans le sol. M2R MMGE, Univ. Grenoble I. 24 juin 2005.
- Apajalahti J.M.A., Karpanoja P. and Salinoja-Salonen M. *R. chlorophenolicus*. sp nov., a chlorophenol mineralizing actinomycete. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 36:246-251. 1986.
- Baptist F., Singer L., J.C. Clement, C. Gallet, Guillemin R., J.M.F. Martins, L. Sage, B. Shavanaz, P. Choller, and R. Geremia. Tannin impacts on microbial diversity and the functioning of Alpine soils. A multidisciplinary approach. *Environ. Microbiol.* 10: 799–809. 2008.
- Barnier C. Effet d'un amendement en matière organique et du vieillissement d'une contamination cuprique sur le transfert du cuivre dans un sol de vigne. Approche expérimentale en colonnes de sol. M2R Transferts Sol et Aquifère". Université d'Avignon. Dir. J.M.F. Martins. 15 sept. 2006.
- Barriuso E., Baer, U., Calvet, R., Dissolved organic matter and adsorption–desorption of dimefuron, atrazine and carbetamide by soils. *J. Environ. Qual.* 21, 359–367. 1992.
- Bear J., Bachmat Y., Introduction to modeling of transport phenomena in porous media, Kluwer Academic Publishers, 1991.
- Bengtsson G. and Carlsson, C. Degradation of dissolved and sorbed 2, 4-dichlorophenol in soil columns by suspended and sorbed bacteria. *Biodegradation* 12 (6) : 419– 432. 2001.
- Benoît P. Rôle de la nature des matières organiques dans la stabilisation des résidus de polluants organiques dans les sols. Thèse de Doctorat de l'INAPG. 209 p. 1994.

- Bollag J.M., Dec J. and Huang P.M. Formation mechanisms of complex organic structures in soil habitats. *Adv. Agron.* 63, 237-266. 1998.
- Bollag J.M., Myers C. J. Et Minard R. D. Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter. *Sci.Tot.Environ.* 123, 202-217. 1992.
- Bradford S. C., Simunek J., S. L. Walker. Transport and straining of E. coli O157:H7 in saturated porous media. *Water Resour. Res.* 42 :. 2005.
- Brooks R.H., Corey C.T., Hydraulic properties of porous media. Hydrol. Paper 3, Colorado State University. Fort Collins, 1964.
- Broussillon Jozina. Construction et Caractérisation d'un biocapteur bactérien porteur de fusions de gènes *mer::cfp::lux* et *mer::yfp::lux*: Application à la détection de Hg biodisponible. DESS Analyses Biologiques et Chimiques. Dir.: J.M.F. Martins. Paris V. 17 Septembre 2003.
- Brusseau, M.L., Rao, P.S.C., Bellin, C.A., Modelling coupled processes in porous media: sorption, transformation and transport of organic solutes. In: Wagenet, R.J., Baveye, P., Stewart B.A. _Eds. *Interacting Processes in Soil Science*, Lewis Pub., Boca Raton. 1992.
- Brusseau, M.L., Xie, L.H., and Li, L. Biodegradation during contaminant transport in porous media: 1. Mathematical analysis of controlling factors. *J. Cont. Hydrol.* 37: 269-293. 1999.
- Burdine N.T., Relative permeability calculations from pore size distribution data, *Petr. Trans. Am. Inst. Mining Metall.Eng.* 198: 71-77, 1953.
- Calderbank A. The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil. *Reviews Environmental Contamination and Toxicology.* 108, 71-103. 1989.
- Carbonero Franck. Etude du rôle potentiel des exopolysaccharides de *C. metallidurans* CH34 dans la fixation des métaux lourds. Stage M1 Biologie Univ. Grenoble I. Dir.: R. Geremia et J.M.F. Martins. Juin 2005.
- Causse B., Gury J., Guiné V., Delolme C., Heyraud A., Geremia R., Martins J.M.F. and Spadini L. Proton and Zn^{2+} reactivity of Xanthan, a model exo polysaccharide to assess metal sorption on bacterial biomass. Proc. of the 9th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements in the Environment (ICOBTE). Technical Session: Trace elements interactions with microbes. Beijing, China. 15-20 July, 2007.
- Chiou C.T. Physical concept of soil-water equilibria for non-ionic organic-compounds. *Science.* 206: 831-832. 1979.
- Chung N. and M., Alexander. Differences in sequestration and bioavailability of Organic compounds aged in dissimilar soils. *Environ. Sci. Technol.* 32: 855-860. 1998.
- Citeau, L., Lamy, I., van Oort, F., and Elsass, F. Colloidal facilitated transfer of metals in soils under different land use. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 217: 11-19. 2003.
- Claessens J, Van Cappellen P Competitive binding of Cu^{2+} and Zn^{2+} to live cells of *Shewanella putrefaciens*. *Environ.Sci.Technol.* 41: 909-914. 2007.
- Compère, F., Porel, G., and Delay, F. Transport and retention of clay particles in saturated porous media. Influence of ionic strength and pore velocity. *J. Cont. Hydrol.* 49: 1-21. 2001.
- Coquet Y. and E. Barriuso. Spatial variability of pesticide adsorption within the topsoil of a small agricultural catchment. *Agronomie* 22: 389–398. 2002.
- Cox J.S., Smith D.S., Warren L.A.and Ferris F.G. 1999. Characterizing heterogeneous bacterial surface functional groups using discrete affinity spectra for proton binding. *Environ. Sci. Technol.*, 33: 4514-4521
- Crançon P. Migration de l'uranium dans un podzol. Le rôle des colloïdes dans la zone non saturée et la nappe : application aux landes de Gascogne, Thèse Univ. J. Fourier Grenoble I, 2001.
- Crocker, F.H., Guerin, W.F., Boyd, S.A., 1995. Bioavailability of naphthalene sorbed to cationic surfactantmodified smectite clay. *Environ. Sci. Technol.* 29, 2953–2958.
- Daughney, C.; Fowle, D.A.; Fortin, D. The effect of growth phase on proton and metal adsorption by *Bacillus subtilis*. *Geochim. Cosmochim. Acta* 65:1025–1035. 2001.
- Daughney, C.J. and J.B. Fein. The effect of ionic strength on the adsorption of H^+ , Cd^{2+} , Pb^{2+} , and Cu^{2+} by *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*: A surface complexation model. *J. Coll. Interf. Sci.* 198, 53-77. 1998.
- de Jonge L. W., C. Kjaergaard, and P. Moldrup. Colloids and colloid-facilitated transport of contaminants in soils: an introduction. *Vadose Zone J.* 3: 321–325. 2004.
- Diederik Spatial variability of atrazine sorption parameters and other soil properties in a gleyic planosol. *J. Contam. Hydrol.* 1999. 36: 31-52.
- Dommergues Y. and F. Mangenot. Ecologie microbienne du sol. Masson, Paris. 796p. 1970.
- Elabd H. Spatial variability of pesticide adsorption parameters. *Environ. Sci. Technol.* 1986
- Endo S., P. Grathwohl, and T.C. Schmidt. Absorption or Adsorption? Insights from molecular probes n-alkanes and cycloalkanes into modes of sorption by environmental solid matrices. *Environ. Sci. Technol.*, 42:3989–3995, 2008.

- Feng, Y., Park, J.H., Voice, T.C., Boyd, S.A., 2000. Bioavailability of soil-sorbed biphenyl to bacteria. *Environ. Sci. Technol.* 34 (10), 1977–1984.
- Flury M. Experimental evidence of pesticides transport through field soils - A review. *J. Environ. Qual.* 25 (1996) 25-45.
- Foppen J.W.A., M. Van Herwerden, J. Schijven. Measuring and modelling straining of *Escherichia coli* in saturated porous media. *J. Contam. Hydrol.* 93:236-254. 2007.
- Fournier J.C. Aspects du comportement de la microflore dégradant les produits phytosanitaires dans le sol. Thèse Université de Perpignan, 502 pages. 1989.
- Fuentes C., Haverkamp R., Parlange J. Y., *Parameter constraints on closed form soil water relationships*, *J. Hydrol.* 134 : 117-142, 1992.
- Gabelli Lionel. Contribution des colloïdes biotiques au transfert rapide de métaux lourds dans les sols vers les nappes. Stage de DEA Sciences de l'Environnement, Paris VI-INAPG. 2001.
- Gabriel U., Transport réactif de l'Uranyle : mode de fixation sur la silice et la goethite ; expériences en colonne et réacteur fermé ; simulations, Thèse Université Joseph Fourier de Grenoble, 1998.
- Gandelli A. Application d'un biocapteur bactérien pour le suivi du cuivre biodisponible dans un sol de vigne. Master 1 TUE, Univ. Grenoble I. Dir. J.M.F. Martins. 2005.
- Gaudet J.P. et M. Vauclin. Rétention et transfert des pollutions des sols par les éléments traces - métaux lourds : mécanismes et modélisation numérique. In «Géomécanique environnementale». Ed. P. Delage. Lavoisier Pub. Paris. p68-95. 2005.
- Gaudet J.P., Jegat H., Vachaud G., Wierenga P.J. Solute transfert with exchange between mobile and stagnant water through unsaturated sand. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41: 665-671, 1977.
- Gerstl, Z., 1990. Estimation of organic sorption by soils. *J. Contam. Hydrol.* 6: 337-356.
- Grisel M. Etude du transport de métaux lourds et de bactéries coliformes dans les sols de bassin d'assainissement pluvial urbain. Cas du bassin d'infiltration Django Reinhardt à Chassieu dans le Rhône. M2R OAH ST. Univ. Grenoble I. Dir.: J.M.F. Martins. 23 juin 2006.
- Grundmann G.L. Spatial scales of soil bacterial diversity - the size of a clone. *FEMS Microbiol Ecol.* 48: 119–127. 2004.
- Guerin, W.F., Boyd, S.A., 1992. Differential bioavailability of soil-sorbed naphthalene to two bacterial strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 1142–1152.
- Guiné V., Martins J.M.F. and J.P. Gaudet. Facilitated transport of heavy metals by bacterial colloids in sand columns. *J. Phys. IV.* 107-593-596. 2003.
- Guiné V., Spadini L., Muris M., Sarret G., Delolme C., Gaudet J.P. and J.M.F. Martins. Zinc Sorption to cell wall components of three gram-negative bacteria: a combined titration, modelling and EXAFS study. *Environ. Sci. Technol.* 40:1806-1813. 2006.
- Guiné V. Approche expérimentale et théorique de la réactivité de surface et de la mobilité des colloïdes bactériens en milieux poreux. Impact sur le transfert accéléré de métaux lourds et intérêt pour la bio-dépollution. Thèse Univ. Grenoble I. 196p. 2006.
- Guiné V., J.M.F. Martins, B. Causse, Durand A., and L. Spadini. Effect of cultivation and experimental conditions on the surface reactivity of the metal-resistant bacteria *Cupriavidus metallidurans* CH34 to protons, Cadmium and Zinc. *Chem. Geol.* 236:266-280. 2007.
- Guiné V. and J.M.F. Martins. Contribution de deux colloïdes bactériens au transport rapide de mercure, zinc et cadmium dans les sols. Dans "Contaminants métalliques des agrosystèmes et écosystèmes péri-industriels". Chap. 3. p67-82. P. Cambier, C. Schwartz and F. van Oort Eds. Editions Quae, Versailles. 2009.
- Guiné V., Elsa Vitorge Gaudet J.P. and J.M.F. Martins. Control of bacterial transport in porous media by biotic factors. Experience and modelling. In preparation for *Environ. Sci. Technol.*
- Haas, J.R. Effects of cultivation conditions on acid-base titration properties of *Shewanella putrefaciens*. *Chem. Geol.* 209: 67-81. 2004.
- Haas, J.R., Dichristina, T.J., and Wade, R.J. Thermodynamics of U(VI) sorption onto *Shewanella putrefaciens*. *Chem. Geol.* 180: 33-54. 2001.
- Harms, H., Zehnder, A.J.B., Bioavailability of sorbed 3-chlorobenzofuran. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 27–33. 1995.
- Hatzinger, P.B., Alexander, M., Effect of aging of chemicals on their biodegradability and extractability. *Environ. Sci. Technol.* 29, 537–545. 1995.
- Haverkamp R., Bouraoui F., Zammit C., Angulo-Jaramillo R., Soil properties and moisture movement in the unsaturated zone. In "The handbook of groundwater engineering". Chapter 5. Ed. Delleur J.W. CRC Press. 1999.
- Hawke, D., Carpenter, P.D., Hunter, K.A. Competitive adsorption of phosphate on goethite in marine electrolytes. *Environ. Sci. Technol.* 23, 187–191. 1989.
- Haws N.W., W.P. Ball, E.J. Bouwer. Modeling and interpreting bioavailability of organic contaminant mixtures in subsurface environments. *J. Contam. Hydrol.* 82 255–292. 2006.

- Hillel D., Environmental soil physics, Academic Press, 1998.
- Hinsinger P., Fernandes Barros O.N., Benedetti, M.F., Noack Y. et Callot G. 2001. Plant-induced weathering of a basaltic rock: experimental evidence. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 65 : 137-152.
- Hinz C., Sinke A. J. C., Martins J.M. and H. Fluehler. Transport of organic pollutants in unsaturated soils. *J. Contam. Hydrol.* 33: 1-3, 1998.
- Hinz, C., Gaston, A., Selim, H.M., Effect of sorption isotherm type on predictions of solute mobility in soil. *Water Resour. Res.* 30, 3013–3021. 1994.
- Houot S., Benoit P., Charnay M.P. Et Barriuso E. 1997. Experimental techniques to study the fate of organic pollutants in soils in relation to their interactions with soil organic constituents. *Analisis*, 25, 41-45.
- Hunter K.S., Wang Y.F., and P. Van Cappellen. Kinetic modeling of microbially-driven redox chemistry of subsurface environments: coupling transport, microbial metabolism and geochemistry. *J. Hydrol.* 209:53-80. 1998.
- Jacques D. C. Mouvet, B. Mohanty, H. Vereecken and J. Feyen. Spatial variability of atrazine sorption parameters and other soil properties in a podzoluvisol. *J. Contam. Hydrol.* 36: 31-52. 1999
- Jauzein M., Andre C., Margrita R., Sardin M., Schweich D., A flexible code for modelling transport in porous media : IMPACT, *Geoderma*, 44 : 95-113 , 1989.
- Jury W.A., Roth K. Transfer functions and solute movement through soil, Theory and applications, Birkhäuser Verlag Basel, 1990.
- Karickhoff S.W. Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Res.* 13 : 241-248. 1979.
- Karrabi M., P. Séchet, Morra C., C. Geindreau, A. Cartellier and J.M.F. Martins. Biofilm growth and hydrodynamic/biomass interaction in a granular bioreactor: modelling and experimental validation. *Water Res.* Submitted. 2008.
- Lagergren S. Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe. *K. Sven. Vetenskapsakad. Handl.* 24: 1-39. 1898.
- Lamotte A. and L.J. Monrozier. Groupement De Recherche (GDR): Risques liés à l'introduction volontaire ou accidentelle de substances exogènes dans l'environnement édaphique. *EXO-SOLS*. 1996.
- Laudelout H. and Schweich D. 1986. Les mécanismes d'interaction solide-liquide et leur modélisation: Application aux études de migration en milieu aqueux. *Doc. Tech. de l'AIEA* 367
- Ledin, M. Accumulation of metals by microorganisms - processes and importance for soil systems. *Earth Sci. Rev.* 2000, 51, 1-31.
- Lee L.S., Rao P.S.C and M.L. Brusseau. Nonequilibrium sorption and transport of neutral and ionised chlorophenols. *Environ. Sci. Technol.* 25, 722-729. 1991.
- Lejon D.P.H., V. Nowak, S. Bouko, N. Pascault, C. Mougél, J.M.F. Martins and L. Ranjard. Genetic Structure and Diversity of Copper Resistant Bacterial Communities According to Soil Types, Organic Status and Copper Contamination. *FEMS Microbiol. Ecol.* 61: 424–437. 2007.
- Lejon D.P.H., J.M.F. Martins, J. Lévêque, L. Spadini, N. Pascault, D. Landry, R. Chaussod, and L. Ranjard. Copper dynamics and impact on microbial communities in vineyard soils of variable organic status. *Environ. Sci. Technol.* 42(8): 2819-2825. 2008.
- Lichtenstein E.P., Katan J. and Anderegg B.N. Binding of "persistent" and "nonpersistent" ¹⁴C-labeled insecticides in an agricultural soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 25, 43-47. 1977.
- Lichtner P.C., Steefel C.I., Oelkers E.H., Reactive transport in porous media, The Mineralogic Society of America, 1996.
- Loehr R.C. and Webster M. T. 1996. Behavior of fresh vs aged chemicals in soil. *J. Soil Contam.* 5, 361-383.
- Loiseau L., Barriuso E. Characterization of the atrazine's bound (nonextractable) residues using fractionation techniques for soil organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 36, 683-689. 2002.
- Loiseau L., Barriuso E., Zegouagh Y., Largeau C. and A. Mariotti. Release of the atrazine non-extractable residues of two soils using degradative techniques. *Agron.* 20, 5, 513-524. 2000.
- Marshall K.C. Theory and practice in bacterial adhesion processes. In "Perspectives in microbial ecology". F. Megusar and M. Gautar (eds). 1986.
- Martins J. Les aspects hydrodynamiques, physico-chimiques et biologiques du devenir des pesticides dans les sols. Application au transfert du Pentachlorophénol en colonnes. Thèse Univ. Grenoble I. 330p. 25 nov. 1993.
- Martins J.M.F., A. Mermoud. Behaviour of dinitrophenol herbicides in soil at different scales: batch, column and lysimeter experiments. 6th COST 66 Int. Workshop: "Pesticides in soil and the environment", p 19-20. Stratford, UK, 13-15 May, 1996

- Martins J.M.F., L.J. Monrozier, A. Chalamet, and R. Bardin. Microbial response to repeated applications of low concentrations of Pentachlorophenol in an Alfisol under pasture. *Chemosphere*. 35: 1637-1650, 1997.
- Martins J.M.F. and A. Mermoud. Sorption and biodegradation of 4 nitroaromatic herbicides in mono and multi-solute saturated/unsaturated soil batch systems. *J. Contam. Hydrol.* 33: 187-210. 1998.
- Martins J.M.F. and A. Mermoud. Transport of rimsulfuron and its metabolites in alluvial soil columns. *Chemosphere*. 38: 601-616. 1999.
- Martins J.M.F. et S. Nazaret. Construction et caractérisation d'un bio-capteur bactérien indicateur de la bio-disponibilité du mercure dans les sols. *Bull. GFHN*, 47: 100-107. 2001.
- Martins J.M.F., N. Chèvre, Spack L., A. Mermoud and J. Tarradellas. Degradation in soil and water and ecotoxicity of rimsulfuron and its metabolites. 45:515-522. *Chemosphere*. 2001.
- Martins J.M.F. and Guiné V. Evidence for heavy metals accelerated transport by bacteria in soils. *Déchets Sci. & Tech.* 32 : 26-30. 2003.
- Martins J.M.F. Application of a whole-cell biosensor to monitor bioavailable copper in a contaminated soil amended with different types of organic matter. "Quantifying reduction in bioavailability and human and ecological risk in treated heavy metal-contaminated soils using in vitro methods and bioassays". Poster. 8th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements. p178-179. Adelaïde. Australia. 3-7 April 2005.
- Martins J.M.F., Morra C., M. Karrabi, I. Florensa-Ferrando, P. Séchet, C. Geindreau, A. Cartelier. Influence des interactions biomasse/hydrodynamique sur la croissance d'un biofilm bactérien dans un biofiltre granulaire pour le traitement d'effluents industriels : Modélisation et validation expérimentale. Colloque Bio-dépollution et Environnement : Savoir et Savoir-faire. Paris 12-13 septembre 2006.
- Martins J.M.F., B. Normand and C. Mouvet. Sorption and degradation of ¹⁴C-isoproturon and its metabolites in a sandy loam field soil: characterisation of the spatial variability. In preparation for *J. Soil Sediments*.
- Mathur S.P. and Morley H.V. Incorporation of methoxychlor ¹⁴C in model humic acids prepared from hydroquinone. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 20, 268-273. 1975.
- Mergeay, M., Monchy, S. Vallaëys, T. Auquier, V. Benotmane A. Bertin P. Taghavi, S. Dunn, J. van der Lelie, D. Wattiez R. *Ralstonia metallidurans* a bacterium specifically adapted to toxic metals: towards a catalogue of metal-responsive genes. *FEMS Microbiol. Rev.* 27:385-410. 2003.
- Mermoud A., J.M.F. Martins, D. Zhang, A.C. Favre. Small scale spatial variability of atrazine and dinoseb adsorption parameters as determined from batch experiments. *J. Environ. Qual.* 37: 1929-1936. 2008.
- Milfont M. L., J.M.F. Martins, A.C.D. Antonino, E. Gouveia, V. Guiné, H. Mas, A.M. Netto, M.B. S. Freire. Reactivity of the plant growth regulator Paclobutrazol (Cultar®) with two tropical soils of the northeast semi-arid region of Brazil. *J. Environ. Qual.* 37:90-97. 2008.
- Mimouni K. Caractérisation du « statut » cuivre à l'aide d'un biocapteur bactérien dans les sols agricoles. Master 1 Chimie-Biologie. Univ. Grenoble I. Dir. J. Martins. 2004.
- Monrozier L. J., P. Guez, A. Chalamet, R. Bardin, J. Martins and J.P. Gaudet. Distribution of micro-organisms and fate of xenobiotic molecules in unsaturated soil environments. *Sci. Total Environ.* 136, p121-133. 1993.
- Montero J.P., Munoz J.F., Abeliuk R., Vauclin M., A solute transport model for the acid leaching of copper in soil columns. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58: 678-686, 1994.
- Morin S., J. Savarino, M.M. Frey, N. Yan, S. Bekki, J.W. Bottenheim and J.M.F. Martins. Tracing the origin and fate of NO_x in the Arctic atmosphere using stable isotopes. *Science*. 322:730-732. 2008.
- Morin S., J. Savarino, M. M. Frey, F. Domine, H.-W. Jacobi, L. Kaleschke and J. M. F. Martins. Comprehensive isotopic composition of atmospheric nitrate in the Atlantic Ocean boundary layer from 65°S to 80°N. *J. Geophys. Res.* 114. 2009.
- Moser-Boroumand F., J.M.F. Martins, M. Forer, A. Mermoud and H. van Den Bergh. Development of an optical fiber fluorescence set-up for in situ PAH detection in porous media. Application to pyranine transport in sand columns. *Intern. J Environ. Anal. Chem.* 68: 239-256. 1997.
- Muller K., G.N. Magesan, N.S. Bolan. A critical review of the influence of effluent irrigation on the fate of pesticides in soil. *Agric. Ecosys. Environ.* 120 : 93–116. 2007.
- Munoz J.F., Rengifo P., Vauclin M., Acid leaching of copper in a saturated porous material : parameter identification and experimental validation of a two-dimensional transport model, *J. Contam. Hydrol.* 27 : 1-24. 1997.
- Muris M. Caractérisation du transport colloïdal du zinc en milieu sableux. Thèse de l'Univ. De Grenoble I. 228 p. 2004

- Muris, M., Delolme, C., Gaudet, J.-P., and Spadini, L. Assessment of biofilm destabilisation and consequent facilitated zinc transport. *Water Sci. Technol.* 51: 21-28. 2005.
- Navel A. Impact de la matière organique et de son évolution sur la biodisponibilité et la mobilisation du cuivre par les colloïdes. M2R OAH ST Univ. Grenoble I. Dir. J.M.F. Martins. 26 Juin 2008.
- Nkeddi-Kizza P., P.S.C. Rao, and A.G. Hornsby. Influence of organic co-solvents on sorption of organic chemicals by soils. *Environ. Sci. Technol.* 19: 975-979. 1985.
- Nkedi-Kizza P., D. Shinde, M. R. Savabi, Y. Ouyang, and L. Nieves. Sorption Kinetics and Equilibria of Organic Pesticides in Carbonatic Soils from South Florida. *J. Environ. Qual.* 35:268–276. 2006.
- Nybroe O., Tom-Petersen A. Hosbond C. Identification of Cu-induced genes in *P. fluorescens* and use of a reporter strain to monitor bio-available copper in soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 38: 59-67. 2001
- Pallud C., Etude multi-échelles du fonctionnement hydrodynamique et microbiologique d'un sol soumis à un apport de solutés : application à l'ammonium et au 2,4D, Thèse Université Joseph Fourier de Grenoble, 2000.
- Pallud C. Dechesne A., Gaudet J.P., Debouzie D., Grundmann G.L. Modification of spatial distribution of 2,4-dichloro-phenoxyacetic acid degrader microhabitats during growth in soil columns. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 2709-2716. 2004.
- Parkhurst D.L. and C.A.J. Appelo. User's guide to PhreeqC (version 2). A computer program for speciation batch-reaction, one dimensional transport and inverse geochemical calculations. *Water Ressources Investigations Report* 99-4259. 1999.
- Paul E.A. and F.E. Clark, Soil Microbiology and Biochemistry. Acad. Press. San Diego, USA. 1996.
- Perrin J.B. Les atomes. Paris, Alcan. 1913.
- Pignatello, J.J. and B.S. Xing. Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles. *Environ. Sci. Technol.* 30:1–11. 1996.
- Ragle C.S., Engebretson R.R. and R. Vonwandruszka. The sequestration of hydrophobic micro-pollutants by dissolved humic acids. *Soil Sci.* 162, 106-114. 1997.
- Ranjard L., L. Lignier, and R. Chaussod. Cumulative Effects of Short-Term polymetal Contamination on Soil Bacterial Community Structure. *Appl. Environ. Microbiol.* 72 : 1684–1687. 2006.
- Robert M. A literature review of soil carbon sequestration. Internat Europ. Conf. "The biological treatment of biodegradable waste - Technical aspects". Brussels. 8-10 April 2002.
- Rousseau M., Transport préférentiel de particules dans un sol non saturé: de l'expérimentation en colonne lysimétrique à l'élaboration d'un modèle à base physique., Institut National Polytechnique de Grenoble (INPG), Grenoble, 242 pp. 2003.
- Saiers J.E. and G.M. Hornberger. The influence of ionic strength on the facilitated transport of cesium by kaolinite colloids. *Water Resour. Res.*, 35: 1713-1728. 1999.
- Scheunert I. and Schröder P. 1998. Formation, characterization and release of non-extractable residues of [¹⁴C]-labeled organic xenobiotics in soils. *Environ. Sci. Pol. Residues.* 5, 238-244.
- Scheunert I. Transformation and degradation of pesticides in soil. p. 23-75. *In Chemistry of Plant Protection.* W. Ebing Ed. Springer-Verlag, Berlin. 1992.
- Schoen R., Gaudet J.P., Bariac T., Preferential flow and solute transport in a large lysimeter, under controlled boundary conditions. *J. Hydrol.* 215: 70-81, 1999.
- Schweich D. and M. Sardin, Adsorption, partition, ion exchange and chemical reaction in batch reactors or in columns. A review, *J. Hydrology*, 50: 1-33, 1981.
- Scow K.M., Simkins S., Alexander M. Kinetics of mineralization of organic compounds at low concentrations in soil. *Appl. Envir. Microbiol.* 51: 1028-1035, 1986.
- Scow K.M. And Alexander M. Effect of diffusion on the kinetics of biodegradation : Experimental results with synthetic aggregates. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56 p 128-134. 1992.
- Sebastia J. Prise en compte de la réactivité de différentes fractions des matières organiques du sol dans la prévision de la spéciation des métaux : cas du cuivre. Thèse de l'Institut National d'Agronomie Paris-Grignon. 170p. 2007.
- Sebastia J., F. Van Oort and I. Lamy. Buffer capacity and Cu affinity of soil particulate organic matter (POM) size fractions. *Eur. J. Soil Sci.* 2008.
- Selifonova et al. 1993. *Appl. Environ. Microb.* 59:3083-3090.
- Selim H. M. and H. Zhu. Atrazine sorption–desorption hysteresis by sugarcane mulch residue. *J. Environ. Qual.* 34:325-335. 2005.
- Selim H.M., Iskandar I.K. Fate and transport of heavy metals in the vadose zone, Lewis Pub. 1999.
- Sen T.K. and Khilar K.C. Review on subsurface colloids and colloid-associated contaminant transport in saturated porous media. *Adv. Colloid Interf. Sci.* 119: 71-96. 2006.
- Sigg L., Stumm W., Behra P., Chimie des milieux aquatiques, Masson, 1992.
- Šimůnek J., M. T. van Genuchten, M. Šejna, The HYDRUS-1D software package for simulating the one-dimensional movement of water, heat, and multiple solutes in variably- saturated media. Version 3.0. 2005.

- Smith, S.C., Ainsworth, C.C., Traina, S.J., Hicks, R.J., 1992. Effect of sorption on the biodegradation of quinoline. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56 (3), 737–746.
- Spack L., C. Alvarez, J.M.F. Martins and J. Tarradellas. Comparison of Supercritical Fluid Extraction (SFE), Soxhlet and shaking methods for pendimethalin extraction from soils: effect of soil properties and water content. *J. Contam. Hydrol.* 33: 171-185. 1998.
- Spain J.C. Microbial adaptation in aquatic ecosystems. In "Enhanced biodegradation of pesticides in the environment". A. C. S. Symposium Series. 1990.
- Spain J.C. and P.A. Van Veld Adaptation of natural microbial communities to degradation of xenobiotic compounds : Effects of concentration, exposure time, inoculum, and chemical structure. *Appl. Environ. Microbiol.* 45 : 428-435. 1983.
- Steinberg C., Grosjean M.C., Bossard B. and Faurie G. Influence of PCBs on the predator-prey relation between bacteria and protozoa in soil. *FEMS Microbiology Ecology* 73, 139-148. 1990.
- Suarez D.L. and J. Simunek. Solute transport modeling under variably saturated water flow. In: The handbook of groundwater engineering. Ed. J.W. Delleur. Springer-Verlag. 1999.
- Szenknect S., D. Rudloff, J.M. F. Martins, C. André, and J-P. Gaudet. Transport and sorption of ^{203}Hg in columns of a surface soil from the French Guyana. HSA8.01 session "Hydrology and chemical processes: Contaminated land: natural attenuation, reactive barriers and in-situ remediation methods". EGS XXVIth General Assembly, Nice, France, 25-30 March. 2001.
- Tang, W.C., White, J.C., Alexander, M., Utilization of sorbed compounds by microorganisms specifically isolated for that purpose. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 49 (1), 117–121. 1998.
- Tufenkji N. Modeling microbial transport in porous media: Traditional approaches and recent developments. *Adv. Water Res.* 30:1455–1469. 2007.
- van der Lee J. Modélisation du comportement géochimique et du transport de radio-nucléides en présence de colloïdes. Thèse Ecole des Mines de Paris. 1997.
- Van Genuchten M. Th., Wierenga P.J., *Mass transfer studies in sorbing porous media. 1 Analytical solutions. Soil Sci. Soc. Am. J.* 40: 473-480, 1976.
- Van Genuchten M. Th., A closed form equation for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 44 : 892-898, 1980.
- Van Genuchten M. Th., Wagenet R. J., *Two site/two region models for pesticide transport and degradation : theoretical development and analytical solutions, Soil Sci. Soc. Am. J.*, 53 : 1303-1310, 1989.
- Van Genuchten P., Gaillard J.F., Biogeochemical dynamics in aquatic sediments. In "Reactive transport in porous media". Chapter 8. Eds Lichtner P.C., Steefel C.I., Oelkers E.H. The Mineralogical Society of America. 1996.
- Vauclin M., Angulo-Jaramillo R. Water and solute transport processes in unsaturated soils: some hydrological and geotechnical aspects. *Proc. 1st International. Conf. on unsaturated soils.* Ed. E. Alonso and P. Delage : 1357-1379, 1996.
- Villermaux J., Génie de la réaction chimique, conception et fonctionnement des réacteurs, Technique et documentation (Lavoisier), 1985.
- Wood B.D. and R.M Ford. Biological processes in porous media: from the pore scale to the field. *Adv. Water Res.* 30: 1387-1391. 2007
- Yaneva, Z.; Koumanova, B. Comparative modelling of mono- and dinitrophenols sorption on yellow bentonite from aqueous solutions. *J. Colloid Interf. Sci.* 293:303-311. 2006.
- Yee N., Fowle D.A. and Ferris F.G. A Donnan potential model for metal sorption onto *Bacillus subtilis*. *Geochem. Cosmochim. Acta*, 68: 3657-3664. 2004.
- Yee, N. and J.B. Fein. Does metal adsorption onto bacterial surfaces inhibit or enhance aqueous metal transport? Column and batch reactor experiments on Cd–*Bacillus subtilis*–quartz systems. *Chemical Geology*, 185: 303-319. 2002
- Yee, N.; Fein, J. B. Cd adsorption onto bacterial surfaces: a universal adsorption edge? *Geochim. Cosmochim. Acta.* 65, 2037-2042. 2001.
- Yolcubal I. J.J. Piatt, S.A. Pierce, M.L. Brusseau, R.M. Maier. Fiber optic detection of in situ *lux* reporter gene activity in porous media: system design and performance. *Anal. Chim. Acta* 422 (2000) 121–130
- Zarzicki R. and A. Chacuk. Adsorption: fundamentals and applications. Pergamon Press Oxford. 1993.
- Zhang D. Measurement scale effects on the determination of sorption and degradation parameters for modelling chemical transport in soil. Thèse EPFL. 2003.
- Zhao, X., Voice, T.C., Assessment of bioavailability using a multicolumn system. *Environ. Sci. Technol.* 34 (8), 1506–1512. 2000.
- Zimdahl, R.L., Cranmer, B.K. and Stroup, W.W., Use of empirical equations to describe dissipation of metribuzin and pendimethalin. *Weed Sci.* 42: 241-248. 1994.